

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année 1959

N° 469

IDENTIFICATION DES TEINTURES-MÈRES VÉGÉTALES HOMÉOPATHIQUES PAR ÉLECTROPHORÈSE ET CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER

THÈSE

présentée

A LA FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 21 Mai 1959

pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

PAR

Jacques SAINT-BLANCARD

Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire

Né le 2 Février 1931 à LIBOURNE (Gironde)

LYON

IMPRIMERIE EMMANUEL VITTE

177, Avenue Félix-Faure

—
1959

**IDENTIFICATION DES TEINTURES-MÈRES
VÉGÉTALES HOMÉOPATHIQUES PAR ÉLECTROPHORÈSE
ET CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER**



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année 1959

N° 469

IDENTIFICATION DES TEINTURES-MÈRES VÉGÉTALES HOMÉOPATHIQUES PAR ÉLECTROPHORÈSE ET CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER

THÈSE

présentée

A LA FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 21 Mai 1959

pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

PAR

Jacques SAINT-BLANCARD

Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire

Né le 2 Février 1931 à LIBOURNE (Gironde)

LYON
IMPRIMERIE EMMANUEL VITTE
177, Avenue Félix-Faure

1959



PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Doyen honoraire	M. J. LÉPINE.
Doyen	M. H. HERMANN, correspondant de l'Institut.
Assesseur	M. M. LEVRAT.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. NICOLAS, COLLET, GUIART, CADE, PATEL, LÉPINE, TRILLAT, MOURIQUAND, MAZEL, GARIN, BONNET, GATÉ, MARTIN.

PROFESSEURS

Clinique médicale A	MM. LEVRAT.
Clinique médicale B	P. RAVAUT.
Clinique et prophylaxie cardio-vasculaires	FROMENT.
Clinique chirurgicale A	MALLET-GUY.
Clinique chirurgicale B	WERTHEIMER.
Clinique chirurgicale C	BERTRAND.
Clinique urologique	CIBERT.
Clinique neuro-psychiatrique et hygiène mentale	DECHAUME.
Clinique des maladies infectieuses et bactériologie	SÉDALLIAN.
Clinique de chirurgie orthopédique et chirurgie infantile	GUILLEMINET.
Clinique gynécologique	POLLOSSON.
Clinique obstétricale	PIGEAUD.
Clinique stomatologique	DUCLOS.
Clinique médicale infantile et hygiène du premier âge	BERNHEIM.
Clinique ophtalmologique	PAUFIQUE.
Clinique et prophylaxie de la tuberculose	BRUN.
Clinique dermatologique et syphiligraphique	THIERS.
Clinique oto-rhino-laryngologique	MOUNIER-KUHN.
Pathologie médicale et clinique médicale propédeutique	CROIZAT.
Physiologie	HERMANN.
Anatomie pathologique	GUICHARD.
Physique biologique, radiologie et physiothérapie	PONTHUS (détaché à Beyrouth).
Thérapeutique chirurgicale et chirurgie opératoire	ROCHET.
Chimie organique et toxicologie	CHAMBON.
Hydrologie thérapeutique, climatologie et écologie sociale	DELORE.
Chimie biologique et médicale	ENSELME.
Histologie	NOEL.
Pharmacie galénique et matière médicale	REVOL.
Médecine du travail	BOURRET.
Hygiène et action sanitaire et sociale	SOHIER.
Biologie médicale et pharmacodynamie	JOURDAN.
Botanique et cryptogamie	NETIEN.
Climie analytique pharmaceutique	BADINAND.
Pharmacie et pharmacologie	DREYON.
Médecine légale et déontologie	ROCHE.
Parasitologie et pathologie exotique	COUDERT.
Traumatologie des membres	CREYSEL Jean.
Cancérologie	DARGENT.
Pathologie générale et expérimentale	GIRARD Paul.
Anatomie	LATARGET.
Thérapeutique	GIRARD Marcel.
Pathologie chirurgicale	PEYCELON.

PROFESSEUR A TITRE PERSONNEL

Physique nucléaire appliquée à la médecine M. BERGER.

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Obstétrique	MM. BANSSILLON.
Parasitologie	ROMAN.

MAITRES DE CONFÉRENCES-AGRÉGÉS

Physiologie	MM. CIER Jean-François.	Anatomie pathologique.	FEROLDI.
Physiologie	CHATONNET.	Chimie organique et	
Chimie biologique et		toxicologie	PERROT.
médicale	CREYSEL Roger.	Thérapeutique	BRETTE.
Bactériologie	BERTOYE André.	Histologie	DUMONT Louis.
Pharmacie galénique et		Hygiène	THIVOLET.
matière médicale	DORCHE.	Parasitologie	GARIN Jean-Paul.
Anatomie	DUROUX.	Physique	MORET.
Pharmacie et pharma-		Cryptogamie	ODDOUX.
cologie	CIER André.		

AGRÉGÉS EN EXERCICE

Médecine générale	MM. GALY.	Dermatologie et syphi-	
Médecine générale	GONIN.	ligraphie	MM. COLOMB.
Médecine générale	GUINET.	Electro-radiologie	PAPILLON.
Médecine générale	PONT.	Maladies infectieuses	MONNET.
Médecine générale	VIGNON.	Médecine légale	COLIN.
Médecine générale	REVOL Louis.	Médecine du travail	TOLOT.
Médecine générale	TRAEGER.	Neuro-chirurgie	LECUIRE.
Médecine générale	PLAUCHU.	Neurologie et psychiatrie	SCHOTT.
Médecine générale	DEVIC Michel.	Neurologie et psychiatrie	GUYOTAT.
Médecine générale	DESPIERRES Charles.	Obstétrique	MATHIEU.
Chirurgie générale	MARION Pierre.	Obstétrique	BURTHIAULT.
Chirurgie générale	MICHAUD.	Obstétrique	DUMONT Martial.
Chirurgie générale	JAUBERT DE BEAUJEU.	Ophthalmologie	BONAMOUR.
Chirurgie générale	SAUTOT.	Orthopédie	MARION Joseph.
Chirurgie générale	GUILLEMIN.	Oro-rhino-laryngologie	GIGNOUX.
Chirurgie générale	FRANCHILLON.	Pédiatrie et puériculture	FRANÇOIS.
Chirurgie générale	DE MOURGUES.	Stomatologie	FREIDEL.
Chirurgie générale	SAUBIER.	Urologie	DURAND Louis.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. NÉTIEN, *président* ; REVOL, DORCHE, CIER, *assesseurs*

A MA FEMME

Ma fidèle compagne, dont l'affection fut un encouragement constant et dont l'aide précieuse sut toujours faciliter ce travail.

En témoignage de ma profonde tendresse.

A MES PARENTS

Sans qui je ne serais ce que je suis. Qu'ils trouvent ici les marques généreuses de ma filiale affection et les faibles remerciements des sacrifices qu'ils se sont imposés pour moi.

A MON FRÈRE CHRISTIAN

A MES BEAUX-PARENTS

A TOUTE MA FAMILLE

A TOUS CEUX QUI ONT CONTRIBUÉ

A MA FORMATION

A TOUS MES VRAIS AMIS

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR G. NÉTIEN,
Chevalier de la Légion d'Honneur,
Professeur de Botanique et de Cryptogamie.

A MES JUGES

MONSIEUR LE PROFESSEUR REVOL

*Professeur de Pharmacie Galénique et Matière Médicale,
Chevalier de la Légion d'Honneur.*

MONSIEUR LE PROFESSEUR DORCHE.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ CIER.

Qu'ils trouvent ici l'expression de notre très
vive reconnaissance.

AVANT-PROPOS

Au moment d'accomplir ce dernier acte d'étudiant en pharmacie, nous comprenons mieux la dette de reconnaissance que nous avons contractée envers tous ceux qui nous ont aidé.

Nous devons, avant tout, remercier M. le Pr NÉTIEN. Dès notre arrivée à la Faculté, il nous a accueilli dans son laboratoire. Il en est l'incomparable animateur. Guide clairvoyant, prodigue de conseils paternels et fermes, nous l'avons toujours trouvé prêt à nous conseiller, malgré ses multiples occupations. Après nous avoir fait l'honneur de nous choisir comme Préparateur, il nous confia ce sujet de thèse, dont la réalisation est toute imprégnée de son expérience.

Mais les paroles ne sont qu'un bien faible témoignage de la gratitude et de la reconnaissance que nous lui devons. Nous espérons lui manifester encore longtemps notre attachement dévoué.

Nous gardons un souvenir tout particulier de notre passage à l'Ecole du Service de Santé Militaire. En y tournant quelques pages de notre vie, nous perdîmes peu à peu ce manque de confiance qui accablait le jeune élève. Nos chefs se sont tellement attachés à notre personne que leur nom reste à jamais gravé dans notre mémoire.

Le Pharmacien Colonel ACCOYER n'a rien épargné pour nous suivre, nous encourager, faciliter nos études, tant pharmaceutiques que scientifiques. Qu'il trouve ici l'expression de notre respectueuse gratitude et de notre entier dévouement.

Le Pharmacien Commandant CIER nous a toujours montré une bienveillance particulière. Il mit spontanément à notre disposition un matériel nécessaire à notre expérimentation. Qu'il veuille bien accepter nos plus vifs remerciements.

Notre gratitude va au Pharmacien Commandant MERCIER. Son influence fut grande sur nos dernières années d'études. Il contrôla notre travail d'apprenti pharmacien, nous aiguilla vers une licence de Sciences, nous encouragea à préparer cette thèse. Il ne nous marchandait jamais ni les conseils, ni les renseignements tirés de sa propre expérience. Il fit tout cela avec la gentillesse dont il a le secret. Sa personnalité, son érudition sans faille, ses grandes connaissances humaines, son prestige, sa modestie sont pour nous le plus bel exemple. Nous espérons ne pas l'avoir déçu et nous tenons à l'assurer de notre profond attachement.

Nous ne saurions oublier de citer nos Maîtres de la Faculté de Médecine et de Pharmacie à qui nous sommes redevables de tant de précieux enseignements.

Nous nous faisons un plaisir de souligner le concours que nous a donné l'« Equipe » du Laboratoire de Botanique et de Cryptogamie.

M. ODDOUX, Agrégé de Cryptogamie, ne nous a jamais ménagé ni ses encouragements ni ses conseils, ni son temps, ni sa peine. Nous lui garderons un souvenir toujours fidèle.

M. LACHARME, Chef des travaux, nous apporta avec spontanéité ses connaissances, son art et son habileté. Qu'il veuille trouver ici nos plus vifs remerciements.

Nous remercions aussi bien vivement M^{me} MÉRY, Assistante, dont le dévouement et la gentillesse sont inépuisables, son expérience et son aide efficace nous ont été très précieuses.

M. Jean BOIRON, et ses collaborateurs directs, des Laboratoires P.H.R. (Lyon), ont droit, à plus d'un titre, à notre reconnaissance. Ils nous ont fourni la « matière première » de ce travail, en ont été les participants et aussi les aimables mais implacables critiques.

INTRODUCTION

En homéopathie, la teinture-mère constitue le stade intermédiaire *obligatoire* entre la drogue végétale de base et sa forme d'emploi. C'est une colature dont les modalités de préparation sont codifiées par l'arrêté du 21 mars 1948.

Dans une communication traitant des « essais des teintures-mères » Jean BOIRON et Ch. CHESNARD [2] constatent que « les médicaments mis à la disposition du médecin homéopathe, du fait même de leur préparation, échappent rapidement à tout examen tenté en vue du dosage ou même de leur identification. Seules les substances de base, les souches et les premières dilutions décimales permettent ce contrôle. Pour les médicaments chimiques, le contrôle est relativement facile et seulement limité par la déconcentration ; il est plus délicat pour les substances végétales ; bien entendu la plante utilisée fait l'objet d'une diagnose précise mais c'est au stade de la forme pharmaceutique, c'est-à-dire ici de la teinture-mère et des dilutions, que l'on doit chercher à faire l'identification ».

L'homéopathie est riche d'environ mille teintures-mères. La codification de 1948 n'en prévoit pas l'identification, mais elle les soumet à un certain nombre d'essais, comme la détermination du poids spécifique, du titre alcoolique apparent, de l'extrait sec et des principes réducteurs. Ces essais n'ont de signification que si on les rapporte à des témoins.

Le médicament est à l'image de sa codification, et au moment où la nécessité d'un Codex des produits homéopathiques français se fait de plus en plus pressant, nous avons songé à établir un *fichier d'identification* des teintures-mères végétales.

Depuis quelques années, M. le P^r NÉTIEN, Jean BOIRON et M^{lle} ALLÈGRE se sont attachés à déterminer des tests à la fois pratiques et sûrs, s'aidant de l'analyse capillaire et de la chromatographie sur papier, et ceci dans le dessein de voir réaliser un travail d'ensemble en langue française. C'est dans ce but que nous apportons notre contribution.

Le problème n'est pas facile à résoudre. Les raisons de ces difficultés sont nombreuses et résident essentiellement dans :

- le grand nombre des teintures à envisager ;
- la composition de chacune d'elles.

Nous avons pensé que la diagnose serait grandement facilitée si nous prenions comme base d'interprétation la composition chimique de la drogue à analyser. L'examen des spots révélés à l'aide de réactifs spécifiques apporterait une confirmation plus précise.

C'est pour cette raison que, dans ce travail, nous présentons des groupes de teintures en fonction de leurs principes actifs (teintures à alcaloïdes, à glucosides flavoniques, anthraquinoniques, stéroliques).

Nous avons essayé de faire correspondre, autant qu'il a été possible, aux spots, l'alcaloïde, le glucoside ou un principe connu à l'état pur, révélés dans les mêmes conditions.

Cependant il faut ajouter que la composition chimique complète des teintures est loin d'être connue.

Les procédés de révélation que nous utilisons ont souvent pour base la fluorescence. Celle-ci a une large application dans la diagnose des préparations pharmaceutiques. Ses avantages sont inestimables, mais pourtant l'appréciation des couleurs est subjective ; le changement de teinte sous l'action d'un réactif approprié donne très souvent des indications intéressantes.

L'utilisation de plusieurs procédés d'analyse doit nécessairement nous permettre d'apporter un ensemble de tests facilitant la diagnose. C'est pour cette raison que nous ajoutons à l'analyse capillaire et la chromatographie sur papier, l'électrophorèse.

Cette dernière technique a déjà été utilisée dans la caractérisation et même le dosage des principes actifs des drogues végétales. Notre contribution, comme on le verra dans ce travail, apporte un élément nouveau qui peut compléter utilement l'identification.

Enfin il est nécessaire d'ajouter qu'une teinture-mère végétale homéopathique n'est qu'une alcoolature, très souvent préparée avec la plante entière (racine comprise). dans un état végétatif nettement déterminé par les formulaires et préparée selon les normes françaises ; ceci rend difficile une comparaison, dans les travaux publiés, avec les teintures allopathiques, ou les préparations homéopathiques des pharmacopées étrangères.

PREMIÈRE PARTIE

GÉNÉRALITÉS

PLAN D'EXAMEN D'UNE TEINTURE-MÈRE

1) PARTIE DESCRIPTIVE.

Pour chaque teinture étudiée nous donnons :

— le nom courant de la plante servant à la préparation de la teinture ;

— son nom latin ;

— sa famille ;

— la partie de la plante employée pour faire la teinture ;

— le mode de préparation ;

— la composition chimique de la plante utilisée ;

— la couleur de la teinture observée en lumière du jour et en lumière ultraviolette filtrée : celle-ci est appréciée par exposition d'un tube à essai en partie rempli de teinture-mère et soumis à l'action des rayons ultraviolets. Au niveau de la surface du liquide, il apparaît un anneau fluorescent, de teinte différente ou identique à celle de la teinture examinée.

2) RÉACTIONS CHIMIQUES.

Recherche d'un trouble susceptible, ou non, de se produire par addition de 1 ml d'eau distillée à 1 ml de teinture.

Ce trouble s'observe à l'œil nu, dans un tube à essai exposé sur fond noir.

Comportement vis-à-vis de réactifs :

Les réactions sont exécutées dans des verres de montre, posés sur fond blanc, par addition d'une goutte de réactif à quatre gouttes de teinture.

Les réactifs (acide sulfurique, acide nitrique, soude, ammoniac) sont des produits purs R.P. La solution de chlorure ferrique est celle du Codex, de densité 1,26, mais diluée par addition de son volume d'eau distillée.

Les réactifs particuliers (DRAGENDORFF, MANDELIN, TSCHESCHE) sont classiques.

3) ANALYSE CAPILLAIRE.

L'analyse capillaire est effectuée selon les indications fournies dans la thèse de M^{lle} ALLÈGRE [1].

4) ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE.

5) ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE.

Ces deux techniques font l'objet d'une mise au point particulière dans les pages suivantes.

L'ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

HISTORIQUE

On attribue généralement la paternité de la Méthode chromatographique au botaniste russe TSWETT qui séparait en 1906 diverses chlorophylles en faisant passer sur une colonne de carbonate de chaux pulvérisé un extrait de feuilles vertes dans l'éther de pétrole. Pourtant, dès 1897, DAY purifie des pétroles bruts américains sur une colonne de poudre de chaux.

La chromatographie sur papier a des titres encore plus anciens. Si on verse une goutte de liquide coloré au centre d'un papier buvard, on voit la goutte mouiller le papier, disparaître rapidement et la tache s'étaler en un cercle qui grandit. Il est bordé par une zone extérieure incolore d'eau pure ; le ou les colorants se rassemblent en anneaux concentriques, d'autant plus éloignés du centre que le papier les a moins fixés. La date de la naissance de la chromatographie se confond avec celle de l'analyse capillaire. En 1850, RYNGE sépare des matières colorantes en solution par ascension dans une mèche de coton. En 1861, SCHONBEIN développe la technique sur une languette de papier et lui donne un nom. Quarante ans après, un de ses disciples, GOPPELSROHDER en écrit le premier traité.

L'analyse chromatographique sur papier a été définitivement mise au point par CONSDEN, GORDON et MARTIN (1944) [5] et doit apporter sa contribution au contrôle des médicaments.

Depuis quelques années, de nombreuses publications ont été présentées dans plusieurs revues, sur cette question. Nous

n'avons pas l'intention de rappeler dans le détail celles qui concernent les préparations galéniques allopathiques, elles ont fait l'objet d'une mise au point et de recherches nouvelles dans la thèse de J.-P. VIEGO (1956) [48]. Les travaux de PARIS (R.) et de ses élèves ont contribué à préciser la détermination et même le dosage des principes actifs de nombreuses plantes ; choline [32], flavonoïdes [28-29, 38], aloïne (DURAND [7]), tréhalose des champignons (BONNET [34]).

Les préparations galéniques de la pharmacopée suisse ont été également étudiées, spécialement pour les teintures à alcaloïdes par MIRIMANOFF et HAKIN [22] et plus récemment par J. BUCHI et H. SCHUMACHER (1957) [4], H. SCHMID et E. STEINEGGER (1957) [42].

La diagnose des préparations galéniques homéopathiques a profité largement des procédés de la chromatographie sur papier. Si l'on se rapporte au travail de P. HAGEDORN [13], on constate que les premiers travaux furent réalisés dans les laboratoires de la firme WILLMAR-SCHWABE de Karlsruhe.

LANG [18] donna la caractérisation de cinq teintures en employant comme phase mobile l'alcool dilué.

ERLRING (H.) et W. WULF étudièrent l'*Hydrastis* et L. RUTTER donna une technique de chromatographie circulaire [8-41].

Nous devons à L. HÖRHAMMER et K.-W. LEUE (1955) une importante contribution à cette diagnose [14].

Un projet d'ensemble d'une refonte du Codex homéopathique allemand a été commencé sous la direction de H. SCHINDLER et une série de publications [43] ont précisé les chromatogrammes des différentes teintures végétales.

Les préparations galéniques homéopathiques françaises, codifiées par l'arrêté du 21 mars 1948, ont été étudiées par G. NÉTIEN, J. BOIRON et L. ALLÈGRE (1956) [25-26].

En 1957, une thèse publiée par L. ALLÈGRE donne des tableaux de diagnose dont nous précisons quelques détails dans ce présent travail (1).

(1) Au cours de l'impression de cette thèse nous avons appris que M. DE LUNA avait présenté une thèse manuscrite à la Faculté de pharmacie de Paris sur un sujet se rapportant à cette diagnose.

MÉTHODE UTILISÉE

Nous avons fait appel à la *chromatographie ascendante sur papier*. Cette méthode, par sa simplicité, convenait à des essais d'identification.

MATÉRIEL

— Cuves de verre, cylindriques, de 32 cm $\times$ 16 cm, munies d'un couvercle.

— Papier Arches 304 : son épaisseur permet *un dépôt abondant pour des résultats nets*.

MISE EN ROUTE DE LA CHROMATOGRAPHIE

Le papier est découpé en feuilles carrées de 28 cm de côté. On effectue, au moins quinze dépôts du produit, à l'aide d'une micropipette, sur des traits de 1,5 cm et distants entre eux de 3 cm sur une ligne horizontale tracée à 3 cm du bord inférieur.

Le solvant développant est placé au fond de la cuve. La feuille roulée en cylindre, fixée à l'aide de fil (exempt de substances fluorescentes) et disposée verticalement dans la cuve qui est recouverte.

DURÉE ET DÉVELOPPEMENT

La durée doit être suffisante pour obtenir au moins 150 mm de développement à partir de la tache de départ.

TEMPÉRATURE

Aussi constante que possible, ne variant pas plus de $\pm 1^{\circ}$ C, dans un local où elle est constamment contrôlée.

SOLVANT DÉVELOPPANT OU ENTRAINEUR

Pour chaque teinture nous employons systématiquement la phase organique du mélange de PARTRIDGE :

butanol — acide acétique — eau (4 — 1 — 5).

Dans quelques cas particuliers, nous avons essayé des solvants différents :

Séparation d'alcaloïdes :

butanol-acide chlorhydrique (85-15) saturé d'eau.

Séparation de flavonoïdes (1) :

*acide acétique — alcool isoamylique — éther de pétrole
— eau (3 — 1 — 3 — 3).*

SÉCHAGE DU CHROMATOGRAMME

A l'air, en position verticale.

RÉVÉLATION DES SPOTS

Nous avons fait appel aux réactifs physiques et chimiques et parfois combiné les deux.

1) *Le révélateur physique* de choix est la *lumière ultraviolette filtrée*. La fluorescence en lumière dite de WOOD est avantageuse. Un grand nombre de substances prennent des colorations assez diverses dont malheureusement l'appréciation est souvent plus subjective que réelle. Ce qui est intéressant, c'est que le chromatogramme ne subit aucune altération et d'autres révélateurs peuvent être utilisés par la suite.

2) Nous avons, en général, procédé à la pulvérisation des *réactifs chimiques* en fin brouillard sur les bandes à l'aide d'appareils de verre munis d'une poire en caoutchouc.

Dans quelques cas, la chaleur est nécessaire pour la révélation ; dans d'autres, il s'avère utile d'observer aux UV les variations de fluorescence entraînées par les réactifs chimiques.

Nous avons écarté la révélation des bandes par trempage dans le réactif par crainte d'un étalement des spots. Et chaque fois que nous le pouvons, nous utilisons une solution très volatile du réactif.

Nous avons classé, de façon succincte, les réactifs chimiques, en fonction du but recherché, pour les cas que nous présentons dans ce travail.

(1) Communication orale de R. PARIS.

A) Révélation des ALCALOÏDES et BASES AZOTÉES.

Réactif à l'iodoplatinate de potassium : 1 g de Cl_4Pt est dissous dans 10 ml d'eau distillée, il lui est ajouté 250 ml d'une solution d'IK à 4 % ; la solution est complétée à 500 ml avec de l'eau distillée.

Les alcaloïdes et les bases azotées donnent des taches *violacées*.

Réactif de DRAGENDORFF modifié par AMELINK à l'iodobismuthate de potassium : 7 g d'IK sont chauffés avec 18 ml d'eau et 3 ml de ClH 4 N à ébullition durant laquelle on ajoute petit à petit 1,5 g de nitrate basique de bismuth. On étend la solution de la même quantité d'eau. Au moment de l'emploi, on mélange 2 ml de cette solution avec 3 ml de ClH à 25 % et on complète avec de l'eau à 130 ml.

Les alcaloïdes donnent des taches *rouge orangé* ; la choline des taches *brun-violacé* ; la trigonelline et la bétaine, des taches *rouge orangé* ; des substances non azotées, des taches *rouges*.

Réactif au vert de bromocrésol : en solution éthanolique à 0,04 %. La choline donne des taches *bleues*.

B) Révélation des GLUCOSIDES CARDIO-ACTIFS.

Réactif de KEDDE à l'acide 2-4 dinitrobenzoïque : en solution à 1 % dans une liqueur normale de CO_3Na_2 .

Les glucosides cardiotoniques donnent des taches *rouges*.

Réactif de TSCHESCHE à l'acide 3-5 dinitrobenzoïque : en solution à 2 % dans l'alcool méthylique. Celle-ci est mélangée au moment de l'emploi, à parties égales, avec une solution 0,5 N de KOH.

Les glucosides cardioactifs donnent des taches *pourpres*, fugaces.

Réactif de CARR-PRICE au trichlorure d'antimoine : en solution saturée dans le chloroforme. On pulvérise le réactif et on passe à l'étuve à 80° pendant quatre à cinq minutes.

Les glucosides cardiotoniques donnent des taches *pourpre violacé*.

C) Révélation des GLUCOSIDES ANTHRAQUINONIQUES.

Réactif à l'acétate de magnésium : en solution éthanolique à 5 %. Les glucosides anthraquinoniques donnent des taches fluorescentes *bleues*.

Réactif de BORNTRÆGER aux vapeurs ammoniacales.

Les glucosides anthraquinoniques donnent des taches *rouge violacé* (oxyméthylanthraquinones).

Réactif à la potasse alcoolique : en solution à 5 %.

Les glucosides anthraquinoniques donnent des colorations *pourpres*.

D) Révélation des FLAVONOÏDES :

Réactif au chlorure d'aluminium : en solution éthanolique à 2 %. Les flavones donnent une tache fluorescente *jaune* et les flavonols une tache fluorescente *verte*.

Réactif au pentachlorure d'antimoine : en solution chloroformique. Les chalcones donnent une teinte *rouge violacé*.

Réactif de CARR-PRICE au trichlorure d'antimoine : en solution chloroformique saturée. On pulvérise et on passe à l'étuve à 80° pendant quatre à cinq minutes.

Les flavones donnent des taches variant du *jaune* au *gris*.

Réactif à l'hydroborure de potassium : en solution à 1 % dans l'alcool à 60°. On révèle par passage aux vapeurs chlorhydriques. (Ce réactif ne se conserve que quelques heures.)

Les flavonones donnent des taches *violettes*.

Vapeurs ammoniacales :

Les flavones donnent des teintes fluorescentes *jaunes, vertes* ou *bleues*.

DÉTERMINATION DE LA POSITION DES SPOTS APRÈS RÉVÉLATION

En ayant recours à la notion classique de Rf.

$$\text{Rf} = \frac{\text{distance parcourue par la substance}}{\text{distance parcourue par le solvant}}$$

L'ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

HISTORIQUE

L'électrophorèse est la migration de particules chargées sous l'influence d'un champ électrique. En faisant traverser un liquide conducteur par un courant électrique, entre deux électrodes, les particules placées au sein du liquide se déplacent, suivant leurs dimensions et la grandeur de leur charge vers l'une ou l'autre des électrodes, à des vitesses différentes.

La première observation du phénomène remonte au début du XIX^e siècle. Un physicien russe, REUSS, en 1807, ayant enfoncé deux tubes de verre pleins d'eau dans un bloc d'argile humide constate que, lorsqu'un courant passe dans le système, l'eau, du côté de l'anode, prend une teinte laiteuse alors qu'elle reste incolore du côté de la cathode. La teinte laiteuse est fournie par des particules d'argile entraînées par le courant. Ce système expérimental est perfectionné tout au long du XIX^e siècle et les efforts aboutissent à la mesure de la vitesse de migration des diverses particules. M. LEDERER-LODGE, en 1886, est le premier à contrôler les vitesses ioniques dans un tube de gélatine renfermant un indicateur coloré. WHETHAM évalue, par la suite, le mouvement d'ions au sein d'un liquide libre, sans gélatine stabilisante, par l'intermédiaire de la célérité avec laquelle un ion coloré migre à l'intérieur de la solution incolore.

DURRUM, FIELD et TEAGUE, en 1907, utilisent cette propriété pour séparer toxine et antitoxine diphtérique dans un gel d'agar-agar. En 1937, TISELIUS a l'idée de remplacer le support liquide ou gélifié par un papier-filtre imbibé de la

liqueur conductrice. La technique devient analytique et entre dans la pratique courante, avec les essais de CREMER et TISELIUS sur les protéines. On sait l'importance qu'a prise cette technique en médecine.

Son application à la biologie végétale et au contrôle des médicaments à base de plantes est récente.

Pour les drogues homéopathiques allemandes, le premier travail semble être celui de VON E. SCHOLZ et P. HAGEDORN (1953) [44].

Les teintures-mères végétales homéopathiques françaises ont fait l'objet d'une première communication de G. NÉTIEN, J. BOIRON et J. SAINT-BLANCARD (1958) [27].

Mais les travaux concernant la caractérisation de principes actifs dans les plantes sont nombreux : nous citerons en particulier PARIS et FAUGERAS qui entreprennent l'étude des alcaloïdes chez quelques Génistées indigènes à l'aide de l'électrophorèse (MACHEBŒUF et REBEYROTTE). Ils caractérisent aussi les flavones grâce à l'électrophorèse sur gélose. Les mêmes auteurs dosent les alcaloïdes de diverses jusquiames [33, 36, 37].

En 1957, PARIS et M^{me} MIGNON [35] examinent les alcaloïdes totaux de plusieurs pervenches. ROUX donne des tableaux de migrations pour différentes drogues végétales et vérifie la pureté de certains *Hydrastis* en fonction d'électrophorégrammes témoins [39-40].

En 1958, PARIS et FAUGERAS séparent et caractérisent les alcaloïdes de solanées indigènes et exotiques [37]. La même année, le comportement électrophorétique des oxymétylanthraquinones de la rhubarbe fait l'objet d'une publication de la part de SIESTO et BARTOLI [45].

ÉLECTROPHORÈSE SUR PAPIER

I. — TECHNIQUE

La technique employée est celle de W. GRASSMANN et K. HANNIG, avec l'appareil ELPHOR H. [12].

PRINCIPE

Le produit à étudier est déposé sous forme d'un fin trait transversal sur une bande de papier filtre spécial imbibé d'une liqueur conductrice. Si on applique une tension électrique aux deux extrémités de la bande de papier, chaque composant du mélange se déplace avec une vitesse qui lui est propre, si bien qu'après un certain temps les différents composants sont séparés. Quand la durée est jugée suffisante, les bandes sont enlevées, séchées, et les fractions séparées rendues visibles par une révélation appropriée.

DESCRIPTION DE L'APPAREIL

Un générateur de tension entretient un courant continu avec une d. d. p. stabilisée entre deux électrodes de platine plongeant dans les bacs les plus externes d'une chambre à électrophorèse. Ces bacs sont eux-mêmes en communication avec des compartiments qui leur sont plus internes par un diaphragme, petit orifice rempli de laine de verre.

Les électrodes sont placées dans un système labyrinthique formé de deux tubes de verre concentriques. Ce dispositif limite la diffusion des produits secondaires de l'électrolyse.

La bande de papier filtre est fixée par simple adhérence sur les cornières d'un pont en matière plastique. Ses extrémités trempent dans les bacs les plus internes.

L'ensemble est muni d'un couvercle. Mais celui-ci ne recouvre que le papier et laisse les électrodes à découvert, permettant aux gaz résultant de l'hydrolyse de s'échapper.

II. — CONDUITE DE L'ÉLECTROPHORÈSE

Papiers utilisés.

Essentiellement :

le papier SCHLEICHER et SCHÜLL 2043 ;

le papier WHATMAN 4.

Le dépôt.

On dépose sur la ligne dite « de départ » soit la teinture-mère elle-même, soit un produit concentré, donc enrichi.

Pour concentrer la teinture, on en évapore dans un cristalliseur 10 ml à la température ambiante ou du moins à une température ne dépassant pas 30° C, puis on reprend le résidu sec par 1 ml de l'alcool qui a servi à préparer la teinture initiale.

Le dépôt se fait au moyen :

— soit d'un fin capillaire, partie effilée d'une pipette Pasteur ;

— soit, le plus souvent, d'une pipette de précision spéciale, graduée, à pointe conique rodée (pipette Elphor).

La détermination de l'endroit et du moment du dépôt répond à certaines exigences.

Le processus habituel, conçu pour l'étude des protéines sériques, préconise d'imbiber au préalable la bande dans le bain prévu pour l'électrophorèse. Puis, dans le but d'enlever la solution en excédent, on la tamponne légèrement et uniformément entre deux feuilles de papier-filtre ordinaire avant de la placer sur son support. *Le pouvoir de succion d'un papier ainsi préparé entraîne un étalement considérable du produit qu'on y dépose.* La nature hydro-alcoolique de la teinture n'est pas, d'ailleurs, sans favoriser une telle diffusion. Enfin, on ne peut être absolument sûr du « séchage » et le reproduire deux fois identiquement.

Un dépôt à sec précédant le trempage ne supprime rien de ces inconvénients.

Il faut bien tenir compte de l'état de saturation du papier en électrolyte. Un temps d'imbibition trop court ne garantit pas cette saturation et la migration sur papier insuffisamment imprégné n'obéit plus, en priorité, aux lois de l'électrophorèse. Projetant d'étudier le comportement d'un alcaloïde témoin, en l'occurrence l'*Atropine*, dont nous savions le caractère cathionique en solution, nous l'avons déposé près de l'anode sur une bande traitée une demi-heure selon le mode classique. Après l'avoir soumis une heure à l'action d'un champ électrique, il nous fut facile de révéler sa position en un quelconque point éloigné de l'anode et rapproché de la cathode. En cela, rien

d'anormal, certes, mais si on plaçait l'alcaloïde du côté de la cathode, le déplacement s'effectuait vers l'anode. On suspecta aisément la prédominance d'un entraînement par le liquide continuant de saturer le papier. Notre conviction fut absolue en obtenant des résultats comparables, *en l'absence de tout courant électrique*.

Le phénomène s'observait à l'œil nu avec des teintures riches en couleur et QUELLE QUE FUT LA POLARITÉ DES CONSTITUANTS RÉVÉLÉS, LEUR MIGRATION ÉTAIT A SENS UNIQUE — CELUI DU « COURANT LIQUIDIEN » — GUIDÉ PAR DES FORCES DE CAPILLARITÉ.

Ces considérations nous ont amenés à définir des conditions de mise en route présentant le maximum de garanties.

Nous avons adopté le mode opératoire suivant :

1. — Remplir de la liqueur conductrice convenable les deux récipients latéraux de la chambre jusqu'à ce que les petites cavités du revêtement de verre des électrodes et le diaphragme de jonction des deux compartiments soient bien couverts. Pour cela, se fier aux traits de repère sur le pont lui-même placé sur son support.

2. — Placer les bandes destinées à l'électrophorèse sur le pont et *les laisser s'imbiber d'elles-mêmes, par capillarité*. Recouvrir la chambre de son couvercle. Repérer la ligne de jonction des deux courants liquidiens inverses. Cette ligne représentera la *ligne de dépôt*.

3. — N'effectuer le dépôt que deux heures après le début de l'imbibition.

A notre sens, ce mode opératoire présente le triple avantage :

— de s'opposer au maximum à l'étalement du produit déposé ;

— d'assurer une saturation convenable du papier et d'éviter la phase du « séchage » ;

— de laisser un temps suffisant afin que s'établisse ce que nous conviendrons d'appeler un « ÉQUILIBRE HYDRODYNAMIQUE » acceptable entre les forces des différentes molécules en présence, du solvant, de la teinture et de support.

Recours à un survoltage.

A des fins de diagnose rapide, nous avons remplacé le générateur de courant initial affecté à l'appareil Elphor par un REDRESSEUR-SURVOLTEUR. Celui-ci est muni d'un voltmètre et d'un milliampèremètre dont les indications peuvent varier par la manipulation de boutons tournants appropriés. Un voyant sert de moyen de contrôle de mise en marche.

Expressions du voltage et de l'intensité.

On ramène la valeur du voltage lue sur le cadran du voltmètre à la longueur de la surface occupée par le liquide conducteur dans la section transversale du papier, ce qui revient à l'exprimer en *volts par cm de longueur*.

L'intensité s'exprime en *milliampères par cm de largeur*. Celle-ci représente la somme des largeurs des bandes en expérience.

Durée de l'expérience.

Un voltage élevé permet de réduire le temps de l'électrophorèse. Nos essais n'ont jamais dépassé deux heures.

Conditions de température.

Nous avons opéré tantôt en chambre froide, rejoignant en cela MOINAT et TULLER, tantôt à la température ambiante.

Choix de la liqueur conductrice.

Nous avons essayé toute une gamme de bains dont le pH varie entre 1,5 et 12. Tenant compte, à la fois, de la polarité des corps à caractériser, de la stabilité des électrolytes et, enfin, de la netteté et de la reproductibilité des résultats, nous nous sommes volontairement limités aux électrolytes suivants :

Electrolyte	pH
<i>Acide formique</i> au 1/10	1,5
<i>Acide acétique</i> au 1/3	1,65
<i>Carbonate d'ammonium</i> à 6 p. 1.000	9
carbonate d'ammonium 6 g	
eau q. s. p. 1.000 ml	
<i>Tampon acide borique-borate de sodium</i>	9,7
acide borique 2 g	
borate de sodium 19 g	
eau q. s. p. 1.000 ml	
<i>Ammoniaque</i> au 1/10	12

L'usage de l'*acide formique* est préconisé par GRAF et LIST [11], celui de l'*acide acétique* par KARIYONE [15]. Ces deux acides sont employés par FAUGERAS ; ils conviennent particulièrement à l'étude des alcaloïdes qui ont le caractère de bases faibles. L'acide formique présente cependant la supériorité d'être totalement et plus facilement volatil lors du séchage des bandes.

Nous avons essayé le *carbonate d'ammonium* sur le conseil de M. MERGIER (communication orale). La stabilité du bain est presque parfaite pendant toute la durée de l'expérience : le pH variant, tout au plus, de 1/10 d'unité de sa valeur initiale. Il est également générateur d'images linéaires, nettes, d'étalement réduit.

Le *tampon acide borique-borate de sodium* emprunté à FAUGERAS facilite la migration des flavonoïdes, polyphénols se comportant comme des anions, de même que leur révélation, en accentuant la fluorescence.

L'*ammoniaque* a permis à PARIS [37] de séparer la Scopolamine du groupe Atropine-Hyoscyamine chez certaines Solanées.

DÉTAILS TECHNIQUES COMPLÉMENTAIRES

Il est utile :

— de tendre encore les bandes de façon à ce qu'elles ne pendent pas, avant de brancher le courant ;

— de placer sous le couvercle quatre à cinq épaisseurs de papier-filtre ordinaire destinées à absorber les gouttelettes de condensation consécutives à l'évaporation de l'électrolyte. Sans ce dispositif, celles-ci retomberaient sur les bandes et risqueraient de provoquer des perturbations dans la répartition et la forme des spots ;

— si la chambre reste hors de service pendant un certain temps, de remplacer la laine de verre du diaphragme. En effet, par évaporation du bain, les sels peuvent y cristalliser, entraînant par la suite des irrégularités dans le passage du courant.

Séchage des bandes.

A l'air libre, en position horizontale.

Révélation des spots.

L'électrophorèse sur papier bénéficie des mêmes techniques de révélation que la chromatographie. On évalue le déplacement des composants en millimètres à partir de la ligne de départ vers l'une ou l'autre des électrodes.

Discussion.

A défaut de pouvoir nous référer à une théorie sûre, nous nous sommes contenté de jouer sur les conditions directement accessibles : papier, concentration de l'électrolyte et pH, voltage, intensité, température, durée.

Il est donc indispensable, pour chaque essai, de bien préciser ces conditions.

CHAQUE TEINTURE EST, EN SOI, UN CAS PARTICULIER CONDITIONNANT L'ANALYSE.

Mais, en dépit des précautions prises, nous n'avons pas toujours obtenu des résultats quantitativement identiques. Il apparaît que la notion de migration doit être considérée comme *relative*, le rapport des déplacements des composants entre eux étant constant dans la très grande majorité des cas.

IL FAUT DONC INTERPRÉTER LES RÉSULTATS.

ÉLECTROPHORÈSE SUR GÉLOSE

La technique n'est pas nouvelle. FAUGERAS l'utilise pour l'étude des flavones de Génistées [10].

Les flavonoïdes adhèrent au support cellulosique du papier ; ils se fixent moins en milieu gélifié.

Nous appliquons la méthode à l'étude de quelques teintures-mères particulièrement riches en flavones. Pour cela, nous tirons parti de l'appareil et de la technique signalés en y apportant les modifications suivantes :

— le pont en matière plastique est remplacé par une lame de verre horizontale (20 cm $\times$ 10 cm) sur laquelle on coule une plaque de 1 mm d'épaisseur de gélose à 3 % de pH 9,7, renfermant les quantités convenables de tampon borico-boraté pour ajuster ce pH ;

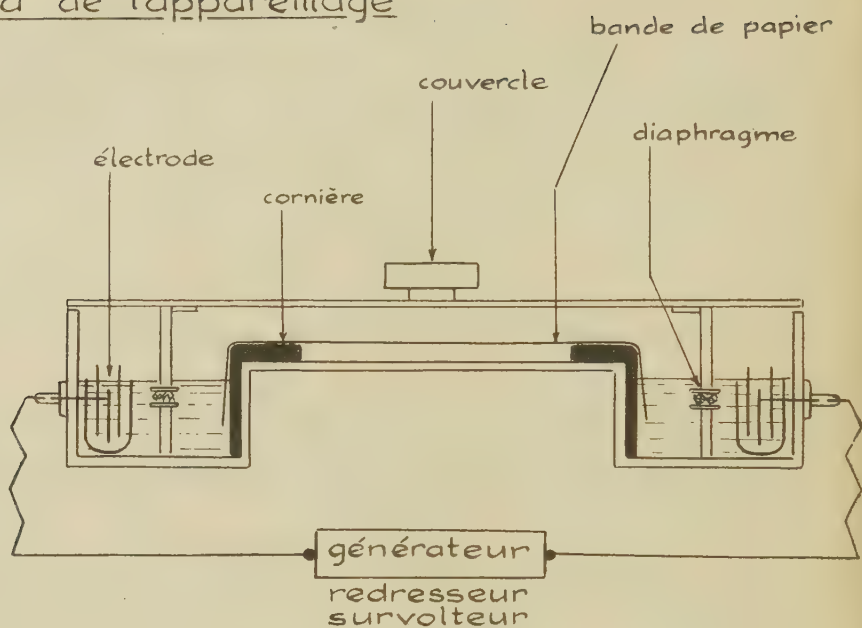
— une fois la gélose solidifiée, on dépose dans un trou ménagé à cet effet, au niveau du gel, la teinture à analyser, dissoute dans de la gélose, à parties égales, et liquéfiée à basse température ;

— on place la plaque entre les bacs renfermant l'électrolyte et on établit le contact à l'aide de deux bandes de Whatman 4. On recouvre ensuite la gélose d'une deuxième plaque de verre identique à la première.

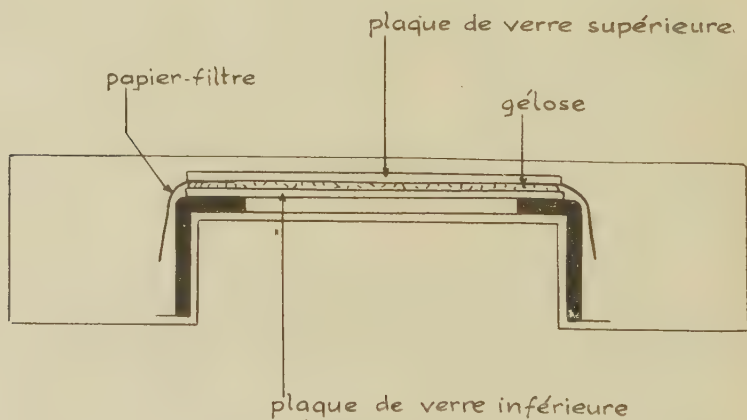
La révélation se fait en lumière de Wood.

Il semble, effectivement, que la séparation des flavones soit meilleure sur gélose que sur papier.

schéma de l'appareillage



pour électrophorèse sur papier



pour électrophorèse en gélouse

DEUXIÈME PARTIE

ESSAIS EXPÉRIMENTAUX

TEINTURES-MÈRES ÉTUDIÉES

I. — TEINTURES A ALCALOIDES

Type atropine :

Atropa belladonna L.
Hyoscyamus niger L.
Datura Stramonium L.

Type berbérine (et teintures de caractères voisins) :

Berberis vulgaris L.
Berberis Aquifolium Pursh.
Hydrastis canadensis L.
Chelidonium majus L.

Divers :

Colchicum autumnale L.
Conium maculatum L.
Veratrum album L.

II. — TEINTURES A GLUCOSIDES CARDIO-ACTIFS

Adonis vernalis L.
Apocynum cannabinum L.
Convallaria maialis L.
Digitalis purpurea L.
Helleborus niger L.

II. — TEINTURES A GLUCOSIDES
ANTHRAQUINONIQUES

Aloe soccotrina Lamk.
Rhamnus cathartica L.
Rhamnus frangula L.

IV. — TEINTURES A FLAVONOIDES

Æsculus Hippocastanum L.
Carduus marianus L.
Cratægus oxyacantha L.
Cynara Scolymus L.
Rhus Toxicodendron L.

CHAPITRE PREMIER

TEINTURES-MÈRES A ALCALOIDES DU TYPE ATROPINE

ATROPA BELLADONNA L.

Belladone
Solanacées

Partie employée.

Plante entière, fraîche, fleurie, avec les racines.

Préparation.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

Bases alcaloïdiques :

hyoscyamine, atropine, apoatropine, belladonine.

Bases volatiles :

diamine acyclique,

pyridine,

N-méthyl pyrroline et N-méthyl pyrrolidine,

acide chrysotropique (= scopolétol ou méthyl-6-esculétol).

CARACTÉRISATION

Couleur rouge-brun.

Couleur sous UV . bleu-vert fluorescent, anneau vert clair
(fluorescence due à l'acide chrysotropique).

Cl₃Fe coloration jaune-vert.

DRAGENDORFF ... précipité brun.

Réaction de VITALI, modifiée par MORIN : 10 ml de teinture sont additionnés du même volume d'eau distillée et alcalinisés par de la lessive de soude ; le tout est agité avec de l'éther anesthésique. La solution éthérée est évaporée au bain-marie et additionnée de quelques gouttes d'acide nitrique fumant. On sèche par évaporation, on ajoute au résidu 10 ml d'acétone et, goutte à goutte, une solution d'hydroxyde de potassium dans le méthanol : la solution prend une coloration violet profond à rose foncé.

Recherche de la β -méthylesculétine : 10 ml de teinture sont évaporés au demi au bain-marie ; on dilue cette solution avec deux parties d'eau distillée ; on filtre et le filtrat est agité avec 5 ml de chloroforme ; on évapore à sec au bain-marie la solution chloroformique filtrée et on reprend le résidu avec 10 ml d'eau distillée chaude ; on filtre et le filtrat est additionné d'une goutte d'ammoniaque : la solution prend une fluorescence vert-bleu (β -méthylesculétine).

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD, les sous-franges présentent une partie supérieure gris-bleu, verdissant sous l'action des vapeurs ammoniacales et une partie inférieure bleu fluorescent.

Les bandes sont jaune pâle.

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).

ancienneté	5 heures
papier	Arches 304
développement	7 h — 170 mm
température	20°

Rf	UV	UV + NH ₃	Dragendorff
0,81	bleu violacé fl.	bleu-vert brillant	
0,76	gris-jaune	gris-jaune	
0,70			traînées orangées
0,47	violet	violet	
0,42			rose
0,34	gris-bleu	gris-violet	
0,33			brun violacé
0,30		jaune	
0,28	gris-jaune	gris-violet	
0,23	gris-bleu	gris-bleu	
0,22	gris-jaune	clair	

Un échantillon de chlorhydrate de choline donne une tache brun violacé avec le réactif de DRAGENDORFF de Rf = 0,33.

Des témoins d'atropine et d'hyoscyamine donnent des spots de Rf très voisins (0,69 ; 0,70) avec le réactif de DRAGENDORFF.

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

1° *Électrolyte acide formique au 1/10 (pH = 1,5).*

papier Schleicher et Schüll 2043
d. d. p. 20 v/cm
intensité 0,5 mA/cm
durée 1 h 15
température ... 4°

dépôt de la T. M., après avoir laissé la bande
s'imbiber pendant deux heures.

Distance parcourue vers la cathode mm	UV	UV + NH ₃	Dragendorff
0	bleu	bleu-vert	
5	brun orangé	orangé	
7	ocre	ocre	
12	brun-vert	brunâtre	
17	gris-vert	vert	
22	gris	clair	orangé
35	bleuté	bleuté	

Des témoins d'atropine et d'hyoscyamine migrent ensemble de 22 mm vers la cathode.

2° *Electrolyte carbonate d'ammonium* à 6 p. 1000 (pH = 9).

papier Schleicher et Schüll 2043
d. d. p. 25 v/cm
intensité 0,7 mA/cm
durée 1 h 20
température ... 20°

dépôt d'un produit enrichi par évaporation,
après avoir laissé la bande s'imbiber pendant
deux heures.

Distance parcourue vers l'anode mm	UV	UV + NH ₃
2	gris	verdâtre
6	jaune	ocre
10	gris	gris violacé
12	brun	brun violacé
17	verdâtre	vert
25	bleu	vert fl.
34	gris-bleu	gris-bleu

Distance parcourue vers la cathode mm	UV	UV + NH ₃	Dragendorff
7	gris-vert	gris	
9	bleu	bleu	
24		bleu-vert	
34			orange

Des témoins d'atropine et d'hyoscyamine migrent ensemble de 34 mm vers la cathode.

HYOSCYAMUS NIGER L.

Jusquiame noire
Solanacées

Partie employée.

Plante entière, fraîche.

Préparation.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

Hyoscyamine,
Atropine,
Hyoscine ou scopolamine,
Hétérosides non définis (hyoscipicine et hyoscirétine).

CARACTÉRISATION

Couleur	brun-jaune
Couleur sous UV ...	gris-jaune, anneau crème
DRAGENDORFF	précipité

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD, les sous-franges ont une teinte bleu violacé. Les bandes sont rouges (chlorophylle).

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).

ancienneté 5 heures
 papier Arches 304
 développement 7 h — 168 mm
 température 20°

Rf	UV	UV + NH ₃	Dragendorff
0,98	rosé	rosé	brun violacé
0,74	gris-bleu	bleu-vert	
0,53	bleu	vert	
0,40		gris-jaune	
0,33			
0,28	gris-bleu	gris-vert	
0,22	bleuté	bleuté	
0,19	gris-jaune	gris-jaune	

Un échantillon de chlorhydrate de choline donne une tache brun violacé avec le réactif de DRAGENDORFF de Rf : 0,33.

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

1° *Electrolyte acide formique au 1/10 (pH = 1,5).*

papier Schleicher et Schüll 2043
d. d. p. 20 v/cm
intensité 0,5 mA/cm
durée 1 h 15
température ... 4°

dépôt de la T. M., après avoir laissé la bande
s'imbiber pendant deux heures.

Distance parcourue vers la cathode mm	UV	UV + NH ₃	Dragendorff
0	bleuté	bleu-verdâtre	orange
3	brun-rouge	brun	
11	ocre	ocre	
22			
25	bleu	bleu	
35	bleuté	bleuté	

Des témoins d'hyoscyamine et de scopolamine se déplacent ensemble de 22 mm vers la cathode.

2° *Electrolyte carbonate d'ammonium à 6 p. 1000 (pH = 9).*

papier Schleicher et Schüll 2043
d. d. p. 25 v/cm
intensité 0,7 mA/cm
durée 1 h 20
température ... 20°

dépôt d'un produit enrichi par évaporation
après avoir laissé la bande s'imbiber pendant
deux heures.

Distance parcourue vers l'anode mm	UV	UV + NH ₃
4		jaune
5	gris	gris
7		violacé
12	gris-jaune	jaunâtre
16	bleu	bleuté
21	jaunâtre	jaunâtre
26	gris-vert	gris-vert

Distance parcourue vers la cathode mm	UV	UV + NH ₃	Dragendorff
0	bleuté	bleu-vert	
9	bleuté	bleuté	
11			orangé
34			orangé

Des témoins d'hyoscyamine et de scopolamine se déplacent respectivement de 34 et de 11 mm vers la cathode.

DATURA STRAMONIUM L.

Stramoine
Solanacées

Partie employée.

Plante entière, fraîche et fleurie.

Préparation.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

Hyoscyamine, atropine, scopolamine (= ancienne daturine).

CARACTÉRISATION

Couleur	brun-jaune
Couleur sous UV	brune, anneau verdâtre
NaOH	jaune vif
Cl ₃ Fe	jaune verdâtre
DRAGENDORFF	précipité

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD, les sous-franges sont bleutées, peu colorées ; elles verdissent sous l'action des vapeurs ammoniacales.

Les bandes sont rouges (chlorophylle).

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).

ancienneté 5 heures
 papier Arches 304
 développement 7 h. — 166 mm
 température 20°

Rf	UV	UV + NH ₃	Dragendorff
0,98	beige rosé	rosé	brun violacé
0,80	gris-bleu	bleu-vert	
0,51		gris-vert	
0,33			
0,32		gris-jaune	
0,26	gris mauveté	gris-kaki	
0,23	ocre	jaune intense	
0,20	jaune		
0,17	ocre	or	

Un échantillon de chlorhydrate de choline donne une tache brun violacé avec le réactif de DRAGENDORFF de Rf : 0,33.

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

1° *Electrolyte acide formique au 1/10 (pH = 1,5).*

papier Schleicher et Schüll 2043
d. d. p. 20 v/cm
intensité 0,5 mA/cm
durée 1 h 15
température ... 4°

dépôt de la T. M., après avoir laissé la bande
s'imbiber pendant deux heures.

Distance par- courue vers la cathode mm	UV	UV + NH ₃	Dragendorff	Iodoplatinate
0	brun	brun		
5	brun violacé	violacé		
9	rose orangé	orangé		
15	gris-bleu	bleuté		
22			orange	violet
23	gris pâle	vert		
30	violet	violet		

Des témoins d'atropine et d'hyoscyamine migrent ensemble
de 22 mm vers la cathode.

2° *Electrolyte carbonate d'ammonium* à 6 p. 1000 (pH = 9).

papier Schleicher et Schüll 2043

d. d. p. 25 v/cm

intensité 0,7 mA/cm

durée 1 h 20

température ... 20°

dépôt d'un produit enrichi par évaporation,
après avoir laissé la bande s'imbiber pendant
deux heures.

Distance parcourue vers l'anode mm	UV	UV + NH ₃
0	rouge	
2		vert
8	ocre	jaune
18	jaune-kaki	kaki
33	beige	beige

Distance parcourue vers la cathode mm	UV	UV + NH ₃	Dragendorff
0	rouge	rouge	
4	violacé	violacé	
9	gris-vert	verdâtre	
23		bleu-vert	
34			orange

Des témoins d'atropine et d'hyoscyamine migrent ensemble
de 34 mm vers la cathode.

CONCLUSIONS RELATIVES AUX TEINTURES DES SOLANACÉES

Les analyses capillaires de ces teintures, examinées en lumière de WOOD, après exposition aux vapeurs ammoniacales présentent les différences suivantes :

- Les sous-franges originellement bleues deviennent :
- verte et bleue pour l'analyse capillaire d'*Atropa*,
 - bleue pour celle d'*Hyoscyamus*,
 - verte pour celle de *Datura*.

La chromatographie sur papier permet une diagnose différentielle à l'aide de la lumière de WOOD et de l'ammoniaque :

	UV	UV + NH ₃	Rf
<i>Atropa</i>	bleu violacé	bleu-vert brillant jaune	0,81 0,30
<i>Hyoscyamus</i>	bleu	vert	0,53
<i>Datura</i>	ocre	jaune intense	0,23

La choline est révélée chez ces trois teintures par le réactif de DRAGENDORFF qui donne un spot brun violacé de Rf = 0,33.

L'atropine ou l'hyoscyamine ne sont révélées nettement que sur les chromatogrammes de teinture d'*Atropa*, par le réactif de DRAGENDORFF qui donne un spot orangé de Rf = 0,70.

Les alcaloïdes sont présents en trop petite quantité dans les deux autres teintures pour être mis nettement en évidence.

L'électrophorèse en milieu alcalin, selon les données de PARIS, permet une séparation du groupe atropine-hyoscyamine de la scopolamine sur les témoins et les teintures surtout si elles ont été concentrées au préalable.

CHAPITRE II

TEINTURES-MÈRES A ALCALOÏDES DU TYPE BERBÉRINE ET TEINTURES DE CARACTÈRES ORGANOLEPTIQUES VOISINS

BERBERIS VULGARIS L.

Epine-vinette

Berbéridacées

Partie employée.

Jeunes racines fraîches, récoltées avant la floraison.

Préparation.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

Principaux alcaloïdes :

berbérine, oxyacanthine, berbamine. .

CARACTÉRISATION

Couleur	rouge orangé, mousse jaune par agitation
Couleurs sous UV.	jaune fluorescent, anneau jaune
NaOH	coloration orangée
DRAGENDORFF ...	précipité

IV gouttes de teinture-mère et II gouttes de réactif de MANDELIN donnent une coloration rouge orangé devenant rapidement jaune-vert ; aspect *jaune orangé* sous UV.

X gouttes de teinture-mère avec X gouttes de ClH et II gouttes d'eau de brome donnent une coloration rouge.

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD, les analyses capillaires présentent sous la bande une petite zone bleutée ; tout le reste est jaune vif extrêmement fluorescent.

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).

ancienneté 1 jour
papier Arches 304
développement 8 h — 200 mm
température $18^{\circ} \pm 0^{\circ}5$

Rf	Jour	UV	UV + NH ₃	Dra- gen- dorff	Iodopla- tinate
0,87	jaune	violet	bleuté	rouge orangé	violet verdâtre
0,66		jaune citron fl.	jaune citron très fl.		
0,57		jaune fl.	jaune fl.	orangé	violet
0,40		jaune	kaki	orangé	violet pâle
0,33		violet pâle	vert pâle	brun violacé	bleu-violet pâle
0,35		jaune pâle	jaune		
0,23			gris-jaune		
0,08			gris-jaune		

Un étalon de chlorhydrate de choline du commerce a été

chromatographié en même temps que la teinture. Il donne une tache brun violacé avec le réactif de DRAGENDORFF et bleu violacé avec l'iodoplatinate de potassium de Rf : 0,33.

Un étalon de berbérine donne un spot jaune de Rf : 0,66.

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

1° *Electrolyte acide acétique au 1/3 (pH = 1,65).*

papier Schleicher et Schüll 2043
d. d. p. 25 v/cm
intensité 0,1 mA/cm
durée 1 h 15
température ... 4°

dépôt de la T. M. après avoir laissé la bande s'imbiber pendant deux heures.

Distance parcourue vers la	Jour	UV	UV + NH ₃	Dragen- dorff	Iodopla- tinate
cathode mm					
0		bleu viol.	bleu		
30	jaune	jaune citron	jaune citron fl.		
33				orangé	violet + verdâtre
45				orange	violet

Un étalon de chlorhydrate de choline se déplace de 45 mm vers la cathode.

Un étalon de berbérine se déplace de 32 mm vers la cathode.

2° *Electrolyte acide formique au 1/10 (pH = 1,5).*

papier Whatman 4
d. d. p. 20 v/cm
intensité 0,6 mA/cm
durée 1 h 30
température 4°

dépôt d'un produit enrichi par évaporation
après avoir laissé la bande s'imbiber pendant
deux heures.

Distance parcourue vers la cathode mm	Jour	UV	UV + NH ₃	Dragen- dorff	Iodopla- tinate
0	{ jaune	mauve	bleuté		
2		jaune pâle			
10		gris-bleu			
17		jaune mat			
25		jaune	jaune	orangé	violet
30		brillant	citron fl.	orangé	verdâtre
35				orangé	violet
59		jaune pâle	jaune pâle	brun orangé	violet

Un étalon de chlorhydrate de choline se déplace de 59 mm vers la cathode.

Un étalon de berbérine se déplace de 27 mm vers la cathode.

BERBERIS AQUIFOLIUM, Pursh.

Mahonia Aquifolium, Nutt.

Mahonia à feuilles de houx

Berbéridacées

Partie employée.

Racines fraîches, récoltées avant la floraison.

Préparation.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

Très voisine de celle de *Berberis vulgaris*.

CARACTÉRISATION

Couleur brun-rouge, mousse jaune par agitation
Couleur sous UV violette, anneau jaune.

NO₃H coloration rose
NaOH coloration orangée
Cl₃Fe coloration brun-vert
DRAGENDORFF ... précipité

IV gouttes de teinture-mère et II gouttes de réactif de MANDELIN donnent une coloration orangée, puis jaune ; aspect jaune orangé sous UV.

X gouttes de teinture-mère avec X gouttes de ClH et II gouttes d'eau de brome donnent une coloration rouge.

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD, les analyses capillaires présentent sous la frange une petite zone bleu violacé, tout le reste de la bande étant jaune vif extrêmement fluorescent.

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).

ancienneté 1 jour
 papier Arches 304
 développement 8 h — 201 mm
 température $18^{\circ} \pm 0^{\circ}5$

Rf	Jour	UV	UV + NH ₃	Dragen- dorff	Iodopla- tinate
0,66	jaune	jaune	jaune citron fl.	orangé	violet verdâtre
0,57		jaune fl.	jaune fl.	orangé	violet
0,45		violet pâle	violet		
0,40		kaki	kaki	orangé	violet
0,33		gris	gris	brun violacé	violacé
0,22		clair	gris		
0,16		gris	gris		

Un étalon de chlorhydrate de choline du commerce a été chromatographié en même temps que la teinture. Il donne une tache brun violacé avec le réactif de DRAGENDORFF et bleu violacé avec l'iodoplatinate de potassium de Rf : 0,33.

Un étalon de berbérine donne un spot jaune de Rf : 0,66.

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

1° *Electrolyte acide acétique au 1/3 (pH = 1,65).*

papier Schleicher et Schüll 2043

d. d. p. 25 v/cm

intensité 0,1 mA/cm

durée 1 h 30

température . . . 4°

dépôt de la T. M. après avoir laissé la bande
s'imbiber deux heures.

Distance parcourue vers la cathode mm	Jour	UV	UV + NH ₃	Drogen- dorff	Iodopla- tinate
0		bleuté	bleu		
32	jaune	jaune citron	jaune citron fl.	orangé	violet verdâtre
45				orangé	violet

Un étalon de chlorhydrate de choline se déplace de 45 mm vers la cathode.

Un étalon de berbérine se déplace de 32 mm vers la cathode.

2° *Electrolyte acide formique au 1/10 (pH = 1,5).*

papier Whatman 4
d. d. p. 20 v/cm
intensité 0,6 mA/cm
durée 1 h 30
température 4°

dépôt d'un produit enrichi par évaporation
après avoir laissé la bande s'imbiber pendant
deux heures.

Distance parcourue vers la cathode mm	Jour	UV	UV + NH ₃	Dragen- dorff	Iodopla- tinate
0		foncé			
2		brun	kaki		
10		gris mauve	gris bleu		
25	jaune	jaune	jaune		violet
30		brillant	citron fl.	orangé	verdâtre
35				orangé	violet
46		jeune vert		orangé	violet
59		jaune pâle		brun violacé	violet

Un étalon de chlorhydrate de choline se déplace de 59 mm vers la cathode.

Un étalon de berbérine se déplace de 27 mm vers la cathode.

HYDRASTIS CANADENSIS L.

Hydrastis du Canada
Renonculacées

Partie employée.

Rhizome sec pulvérisé.

Préparation.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

Hydrastine, berbérine, 1-canadine, phytostérine, acides gras divers.

CARACTÉRISATION

Couleur brun orangé, mousse jaune par agitation
Couleur sous UV .. vert-jaune fluorescent, anneau jaune

NaOH coloration ocre
Cl₃Fe coloration verdâtre
DRAGENDORFF ... précipité

IV gouttes de teinture-mère et II gouttes de réactif de MANDELIN donnent une coloration rouge orangé devenant brun orangé ; aspect laiteux, gris-vert sous UV.

X gouttes de teinture-mère avec X gouttes de ClH et II gouttes d'eau de brome donnent une coloration rouge.

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD, les analyses présentent sous la frange une petite zone bleu fluorescent et tout le reste de la bande est jaune vif extrêmement fluorescent.

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).

ancienneté 1 jour
 papier Arches 304
 développement 8 h. — 201 mm
 température $18^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$

Rf	Jour	UV	UV + NH ₃	Dra- gen- dorff	Iodopla- tinate
0,96	jaune	gris-bleu	vert fl.		
0,77		vert	bleu-vert	orangé	violet
0,66		jaune	jaune	orangé	violet
		citron	citron fl.		verdâtre
0,57		vert pâle	vert pâle	rose	violet
				orangé	
0,50		jaune pâle			
0,40		violacé			
0,33		jaune pâle			
0,23		gris-jaune			

Un étalon de berbérine donne un spot jaune de Rf : 0,66.

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

1° *Electrolyte acide acétique au 1/3 (pH = 1,65).*

papier Schleicher et Schüll 2043
d. d. p. 25 v/cm
intensité 0,1 mA/cm
durée 1 h 15
température ... 4°

dépôt de la T. M. après avoir laissé la bande
s'imbiber pendant deux heures.

Distance parcourue vers la cathode mm	Jour	UV	UV + NH ₃	Dragen- dorff	Iodopla- tinate
0		bleuté			
32	jaune	jaune citron fl.	jaune citron fl.	orangé	violet verdâtre
34		bleu de cœruleum	bleu brillant	orangé	violet

Un étalon de berbérine se déplace de 32 mm vers la cathode.

2° *Electrolyte acide formique au 1/10 (pH = 1,5).*

papier Whatman 4
d. d. p. 20 v/cm
intensité 0,6 mA/cm
durée 1 h 30
température 4°

dépôt d'un produit enrichi par évaporation
après avoir laissé la bande s'imbiber pendant
deux heures.

Distance parcourue vers la cathode mm	Jour	UV	UV + NH ₃	Dragen- dorff	Iodopla- tinate
0		mauve	mauve		
5		jaune	jaune		
11		kaki			
18		bleu-vert	bleu-vert	orangé	violet
22	{				violet
30		jaune fl.	jaune fl.	orangé	verdâtre
33					
		jaune	jaune		
		citron	citron		
45		bleu-vert brillant	bleu brillant	orangé	violet

Un témoin de berbérine se déplace de 27 mm vers la cathode.

CHELIDONIUM MAJUS L.

Grande chélidoine

Papavéracées

Partie employée.

Plante entière, fraîche, fleurie, avec les racines.

Préparation.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

Alcaloïdes phénanthréniques :

chélidonine, chélérythrine,
méthoxychélidonine, oxychélidonine,
sanguinarine, homochélidonine.

Alcaloïdes isoquinoléiques :

chélidoxanthine (= berbérine),
protopine (= fumarine),
 α allocryptopine = (β homochélidonine).
 β allocryptopine = (γ homochélidonine).

Spartéine (reconnue dans le latex).

Acide chélidonique.

Acides organiques banaux.

Flavonol.

CARACTÉRISATION

Couleur	rouge orangé
Couleur sous UV	orangé fluorescent, anneau orangé
NaOH	coloration jaune
NH ₄ OH	coloration jaune
DRAGENDORFF	précipité

1 ml de teinture-mère est additionné de 1 ml de lessive de potasse à 25 % et de 3 ml d'alcool à 45°. On obtient une opalescence bleue (acide chélidonique).

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD, les analyses capillaires présentent sous la bande une petite zone beige bleuté et tout le reste de la bande est jaune d'or fluorescent.

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).

ancienneté 1 jour
 papier Arches 304
 développement 8 h — 200 mm
 température $18^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$

Rf	Jour	UV	UV + NH ₃	Dragendorff	Iodoplatinate
0,78	jaune	ocre	jaune fl. jaune-or	orangé	violet
0,66		jaune fl.		orangé	violet pâle
0,55		jaune-or			violet
0,33				brun	verdâtre
				violacé	bleu
0,25			brun		violacé
0,12			jaune pâle		

Un étalon de chlorhydrate de choline du commerce a été chromatographié en même temps que la teinture. Il donne une tache brun violacé avec le réactif de DRAGENDORFF et bleu violacé avec l'iodoplatinate de potassium de Rf : 0,33.

Un étalon de berbérine donne un spot jaune de Rf = 0,66.

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

1° *Electrolyte acide acétique au 1/3 (pH = 1,65).*

papier Schleicher et Schüll 2043

d. d. p. 25 v/cm

intensité 0,1 mA/cm

durée 1 h 15

température ... 4°

dépôt de la T.M., après avoir laissé la bande
s'imbiber pendant deux heures.

Distance parcourue vers la cathode mm	Jour	UV	UV + NH ₃	Dra- gen- dorff	Iodopla- tinate
0		bleu violacé	bleu		
23	jaune	jaune-or	jaune-or fl.	orangé brun	violet bleu
43				violacé	violacé

Un étalon de chlorhydrate de choline se déplace de 43 mm
vers la cathode.

2° *Electrolyte acide formique au 1/10 (pH = 1,5).*

papier Whatman 4
d. d. p. 20 v/cm
intensité 0,6 mA/cm
durée 1 h 30
température 4°

dépôt d'un produit enrichi par évaporation,
après avoir laissé la bande s'imbiber pendant
deux heures.

Distance parcourue vers la cathode mm	Jour	UV	UV + NH ₃	Dragen- dorff	Iodopla- tinate
0		bleuté	bleu-vert		
3		brun-vert			
5		kaki	kaki		
13		ocre	orangé		
19		violet	pourpre		
30					
32	jaune	jaune-or fl.	jaune-or fl.	orangé	violet
58				brun violacé	bleu violacé

Un étalon de chlorhydrate de choline se déplace de 58 mm
vers la cathode.

CONCLUSION RELATIVE AUX TEINTURES
A ALCALOÏDES DE TYPE BERBÉRINE

L'examen des teintures sous la lumière de WOOD permet une première différenciation :

- la teinture de *Berberis vulgaris* est jaune fluorescent, avec un anneau jaune ;
- la teinture de *Berberis aquifolium* est violette, avec un anneau jaune ;
- La teinture d'*Hydrastis canadensis* est vert-jaune fluorescent, avec un anneau jaune ;
- la teinture de *Chelidonium majus* est orangé fluorescent, avec un anneau orangé.

Les analyses capillaires sont très caractéristiques par leur teinte jaune qui sous la lumière de WOOD apparaît :

- jaune d'or pour les analyses de *Chelidonium majus* ;
- jaune citron très fluorescent pour les analyses des trois autres teintures qui se distinguent les unes des autres par la coloration de la zone située sous la frange qui est :
 - bleutée pour les analyses de *Berberis vulgaris* ;
 - bleu violacé pour les analyses de *Berberis aquifolium* ;
 - bleu fluorescent pour les analyses d'*Hydrastis canadensis*.

L'essai d'identification à l'acide chlorhydrique et l'eau de brome permet de séparer la teinture de *Chelidonium* du groupe *Berberis-Hydrastis*.

L'essai d'identification au réactif de MANDELIN permet une différenciation des *Hydrastis* et *Berberis* :

— la teinture d'*Hydrastis canadensis* prend une coloration rouge orangé, devenant rapidement brun orangé et apparaissant gris-vert laiteux aux UV ;

— la teinture de *Berberis vulgaris* prend une coloration rouge orangé, devenant rapidement jaune-vert et apparaissant jaune orangé aux UV ;

— la teinture de *Berberis aquifolium* prend une coloration brun orangé, devenant rapidement jaune et apparaissant jaune orangé aux UV.

L'analyse chromatographique révèle la présence de berbérine (spot de $R_f = 0,66$) chez toutes les teintures, celle de choline chez toutes les teintures sauf celle d'*Hydrastis canadensis* (spot de $R_f = 0,33$) et des spots alcaloïdiques autres que la berbérine de R_f suivants :

— 0,57 et 0,40 pour les teintures des deux *Berberis* ;

— 0,77 et 0,57 pour la teinture d'*Hydrastis* ;

— 0,78 et 0,55 pour la teinture de *Chelidonium*.

En lumière de WOOD nous distinguons les deux *Berberis* grâce à un spot violet de $R_f = 0,87$ sur le chromatogramme de *Berberis vulgaris*, absent sur celui de *Berberis aquifolium*.

L'analyse électrophorétique permet de retrouver la choline à 43 mm vers la cathode (en acide acétique au 1/3) et à 58 mm vers la cathode (en acide formique au 1/10) dans toutes les teintures sauf celle d'*Hydrastis*, la berbérine à 32 mm vers la cathode (en acide acétique au 1/3) et à 27 mm vers la cathode (en acide formique au 1/10) dans toutes les teintures sauf celle de *Chelidonium*, et des alcaloïdes autres que la berbérine migrant vers la cathode, à une distance de :

— 35 mm (en acide formique) avec la teinture de *Berberis vulgaris* ;

— 35 mm et 46 mm (en acide formique) avec la teinture de *Berberis aquifolium* ;

— 34 mm (en acide acétique), 18 mm et 45 mm (en acide formique) avec la teinture d'*Hydrastis canadensis* ;

— 23 mm (en acide acétique), 30 mm (en acide formique) avec la teinture de *Chelidonium majus*.

CHAPITRE III

TEINTURES-MÈRES A ALCALOIDES DIVERS

COLCHICUM AUTUMNALE L.

Colchique d'automne

Liliacées

Partie employée.

Bulbes frais dépourvus de leur enveloppe papyreuse.

Préparation.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

Amidon, gomme, tanin, résine.

Colchicine, Colchicéine.

Substance C (colchicine déméthylée en 4 sur le noyau benzénique).

Colchicoside.

Acide chélidonique.

CARACTÉRISATION

Couleur brun-rouge

Couleur sous UV ... brun-vert, anneau jaune pâle

DRAGENDORFF précipité

Teinture-mère évaporée à sec et additionnée de NO_3H donne une coloration jaune très fugace devenant rapidement violette.

10 ml de teinture-mère additionnés de 10 ml d'eau, II gouttes de lessive de soude et 10 ml de CHCl_3 sont agités et on sépare la couche chloroformique que l'on évapore à sec au bain-marie ; le résidu est additionné de quelques gouttes de SO_4H_2 et d'un petit grain de nitrite de potassium : on obtient des traînées violettes.

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD. les sous-franges sont peu colorées, légèrement bleues ; les bandes sont crème.

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).

ancienneté 2 jours
papier Arches 304
développement 7 h 30 — 185 mm
température 22°

Rf	UV	UV + NH_3	Dragendorff	Iodoplatinate
0,93	jaune	jaune		
0,90		bleu-vert		
0,82	jaune pâle	vert	orangé	violet
0,50	clair	clair		
0,41	violacé	violacé		
0,33	gris-jaune	gris-jaune	brun violacé	bleu-violet
0,25	gris-bleu	gris-bleu		

Un étalon de chlorhydrate de choline de commerce a été chromatographié en même temps que la teinture-mère. Il donne une tache brun violacé avec le réactif de DRAGENDORFF et bleu-violet avec l'iodoplatinate de potassium de Rf : 0,33.

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

Electrolyte acide formique au 1/10 (pH = 1,5).

papier Schleicher et Schüll 2043

d. d. p. 20 v/cm

intensité 0,5 mA/cm

durée 1 h 15

température ... 4°

dépôt de la T.M., après avoir laissé la bande s'imbiber pendant deux heures.

Distance parcourue vers la cathode mm	UV	UV + NH ₃	Dragendorff	Iodoplatinate
0	bleuté			
1	jaune		orangé	violacé
17	brun	ocre-jaune	orangé	violet
34			orangé	violacé
43	clair		brun violacé	bleu violacé

Un étalon de choline migre de 43 mm vers la cathode.

CONCLUSION

L'analyse chromatographique révèle la présence d'un alcaloïde (spot de Rf = 0,82) et de choline (spot de Rf = 0,33).

L'analyse électrophorétique permet de retrouver trois spots alcaloïdiques à 1, 17 et 34 mm vers la cathode (électrolyte : acide formique au 1/10) et la choline à 43 mm vers la cathode.

CONIUM MACULATUM L.

Grande ciguë
Ombellifères

Partie employée.

Sommités récoltées un peu avant la maturité des fruits,
en juillet.

Préparation.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

essence,

alcaloïdes :

I — d — Conine (+ n propylpipéridine)

n — méthylconine

conhydrine

pseudoconhydrine (= oxy d-conine)

flavonoïdes

diosmine

CARACTÉRISATION

Couleur	jaune-brun
Couleur sous UV	gris clair, anneau de surface jaune
1 ml T.M. + 1 ml H ₂ O ..	trouble léger.
DRAGENDORFF	précipité

10 ml de teinture-mère sont additionnés de V gouttes de lessive de soude et agités avec 20 ml de CHCl₃ ; on acidifie l'extrait chloroformique avec de l'acide chlorhydrique, on agite et la partie aqueuse de la solution est séparée et douce-

ment chauffée pour éliminer le chloroforme restant. La solution est alcalinisée par de la lessive de soude et chauffée : il se dégage une odeur d'urine de souris (conine).

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD, les sous-franges sont bleues et les bandes roses (chlorophylle).

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).

ancienneté 1 jour
papier Arches 304
développement 8 h 15 — 190 mm
température 21°

Rf	UV	UV + NH ₃	Dragendorff	Iodoplatinate
0,98	jaunâtre			
0,89	gris-crème			
0,85		bleu		
0,76	bleu-violet	gris-bleu		
0,66			orangé	violacé
0,60	gris-bleu	bleu-vert		
0,53	gris-crème			
0,50	gris-violet			
0,43	gris-jaune			
0,39		bleu		
0,33			brun violacé	bleuté
0,30	bleu de cœruleum	bleu-vert		

Un échantillon de chlorhydrate de choline donne, avec le réactif de DRAGENDORFF, une tache brun violacé de Rf : 0,33.

L'acide chlorogénique donne un spot de Rf : 0,60.

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

Électrolyte acide formique au 1/10 (pH = 1,5).

papier Schleicher et Schüll 2043
d. d. p. 20 v/cm
intensité 0,5 mA/cm
durée 1 h 15
température ... 4°
dépôt de la T.M., après avoir laissé la bande
s'imbiber pendant deux heures.

Distance par- courue vers la cathode mm	UV	UV + NH ₃	Dragendorff	Iodoplatinate
0	rouge	rouge		
2	bleuté	bleuté		
9	ocre	ocre		
15			orangé	violet
18	crème	crème		
21	bleuté	bleu		
33			orangé	violet
37	violacé	violet		
43			brun violacé	bleu violacé

Un étalon de chlorhydrate de choline migre de 43 mm vers la cathode.

Un étalon d'acide chlorogénique reste en place.

CONCLUSION

L'analyse chromatographique révèle la présence d'un alcaloïde (spot de $R_f = 0,66$), de choline (spot de $R_f = 0,33$) et d'acide chlorogénique (spot de $R_f = 0,60$).

L'analyse électrophorétique permet de retrouver deux alcaloïdes à 15 et 33 mm vers la cathode (électrolyte : acide formique au 1/10), la choline à 43 mm vers la cathode.

VERATRUM ALBUM L.

Ellébore blanc

Liliacées

Partie employée.

Rhizome et racines frais, récoltés avant la floraison.

Préparation.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

résines, glucides, pectines, huile grasse
alcaloïdes stéroliques (1 %). :

Cévine, Germine, Protovérine, Rubijervine
alcaloïdes-esters :

Vératridine, Germerine, Protovératine
glucoalcaloïdes :

Veratrosine, Pseudojervine
acide chélidonique

CARACTÉRISATION

Couleur	rouge
Couleur sous UV	bleue, anneau crème
Acétate de plomb	précipité brun-jaune
DRAGENDORFF	précipité

Teinture-mère évaporée à sec et additionnée de II gouttes de SO^4H_2 donne une coloration jaune.

1 ml de teinture-mère additionné de 1 ml de lessive de potasse à 25 % et de 3 ml d'alcool à 45° donne une opalescence bleue (acide chélidonique).

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD, les sous-franges sont gris-bleu, bleu violacé et bleu roi fluorescent.

Les bandes sont jaunes et brunes.

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).

ancienneté 2 jours
 papier Arches 304
 développement 7 h 15 — 168 mm
 température 20°

Rf	UV	UV + NH ₃	Dragendorff	Iodoplatinate
0,95		vert		
0,90			orangé	violet
0,86	rose	rose		
0,73	violet	bleu lumineux		
0,49	rose	bleu fl.		
0,37	bleu-violet	bleu-vert		
0,32			brun violacé	
0,22	violet	vert fl.		

Un étalon de vératrine cristallisée du commerce a été chromatographié en même temps que la teinture. Il donne une tache violacée avec l'iodoplatinate de potassium et orangée avec le réactif de DRAGENDORFF de Rf : 0,90. De même un témoin de chlorhydrate de choline est révélé par le réactif de DRAGENDORFF au Rf : 0,33.

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

Electrolyte acide formique au 1/10 (pH = 1,5).

papier Schleicher et Schüll 2043
d. d. p. 20 v/cm
intensité 0,5 mA/cm
durée 1 h 15
température ... 4°

dépôt de la T. M., après avoir laissé la bande s'imbiber pendant deux heures.

Distance parcourue vers la cathode mm	UV	UV + NH ₃	Dragendorff	Iodoplatinate
0	bleu-violet	bleu brillant		
7	ocre	verdâtre		
11	mauve	rosé		
15	gris-bleu	gris-bleu	orangé	violet
21	jaune	jaune	orangé	violet
29	bleuté	bleuté		
44			brun violacé	

Un étalon de vératrine se déplace de 21 mm vers la cathode ;
un étalon de choline se déplace de 44 mm.

CONCLUSION

L'analyse chromatographique révèle la présence de vératrine (spot de Rf = 0,90) et de choline (spot de Rf = 0,33).

L'analyse électrophorétique permet de retrouver la vératrine à 21 mm vers la cathode, un alcaloïde à 15 mm vers la cathode et la choliné à 44 mm vers la cathode.

CHAPITRE IV

TEINTURES-MÈRES A GLUCOSIDES CARDIO-TONIQUES

ADONIS VERNALIS L.

Adonis de printemps

Renonculacées

Partie employée.

Plante entière.

Préparation.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

acide conitique

adonidol (polyol)

hétérosides :

glucoside I : *Adonidoside* hydrosoluble amorphe

glucoside II : *Adonivernoside* non hydrosoluble amorphe

Adonitoxine cristallisée (isomère de la convallatoxine)

cymaroside

flavonoïde (rutine)

coumarine

quinone

stérols, phytostérine, acides gras divers

choline

CARACTÉRISATION

Couleur	jaune
Couleur sous UV	kaki, anneau jaunâtre
NaOH	color.tion jaune vif
Cl ₃ Fe	coloration vert sombre
DRACENDORFF	louche
TSCHESCHE	teinte brun orangé légère

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD, les analyses capillaires présentent une partie supérieure peu colorée, une partie inférieure brun violacé et une bande brune.

Sous l'action des vapeurs ammoniacales, la partie inférieure devient jaune-vert fluorescent, la partie inférieure, brun violacé et la bande, jaune.

Le chlorure d'aluminium fait apparaître une zone orangée.

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).

ancienneté 3 jours
 papier Arches 304
 développement 7 h — 175 mm
 température 19°

Rf	Jour	UV	UV + NH ₃	KOH	KOH + UV	Cl ₃ Sb + 80°
0,98	jaune	gris-vert		jaune		gris
0,77		gris-bleu	gris-vert		vert	
0,58		gris-vert	gris-vert		vert fl.	
0,40		brun	vert- orangé		orangé	jaune
0,35		kaki	vert			
0,29		gris-jaune	jaune		jaune	jaune intense
0,21						
0,15		gris	jaune		jaune	

Un échantillon d'adonidine MERCK, chromatographié dans les mêmes conditions, donne un spot rose de Rf = 0,80.

Sur une teinture-mère concentrée au 1/5, le réactif de TSCHESCHE fait apparaître une coloration rose au même spot. Résultats négatifs avec le réactif de DRACENDORFF.

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

Electrolyte carbonate d'ammonium à 6 p. 1000 (pH = 9).

papier Whatman 4
d. d. p. 22 v/cm
intensité 0,7 mA/cm
durée 1 h 20
température 20°

dépôt d'un produit enrichi par évaporation,
après avoir laissé la bande s'imbiber pendant
deux heures.

Distance par- courue vers l'anode mm	Jour	UV	UV + NH ₃	KOH	Cl ₃ Sb + 80°
0		brun			
7		bleu	jaune- vert fl.		violacé
10		kaki	jaunâtre		
12		gris-vert			
17		gris-violet	gris-jaune	jaune	jaune
20		gris-brun	ocre		
24		brun jaune			
28	jaune-kaki	marron	kaki		

Distance par- courue vers la cathode mm	Jour	UV	UV + NH ₃	Tschesche	Cl ₃ Sb + 80°
5		violet	violacé	gris pourpré	gris

Un échantillon d'adonidine, dans les mêmes conditions
migre à 5 mm vers la cathode.

APOCYNUM CANNABINUM L.

Chanvre canadien

Apocynacées

Partie employée.

Plante entière, fraîche, fleurie avec racines.

Préparation.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

huile grasse

tanin — acide gallique

glucoside

Cymarine = *K Strophantine* (cymarigénine + cymarose)

CARACTÉRISATION

Couleur	jaune orangé
Couleur sous UV	bleue, anneau bleu
NaOH	coloration rose-beige
Cl ₃ Fe	coloration verte
TSCHESCHE	coloration pourpre

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD, les analyses capillaires présentent une teinte bleue s'avivant sous l'action des vapeurs ammoniacales.

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).

ancienneté 3 jours
 papier Arches 304
 développement 7 h — 172 mm
 température 19°

Rf	Jour	UV	UV +NH ₃	KOH	KOH +UV	Tsche- sche	Cl ₃ Sb +80°	Dragen- dorff
0,98	jaune pâle	beige	beige		violet bleu- vert fl.	} pourpre	gris	
0,93			violet				violacé	
0,85			bleu- vert fl.					
0,71				jaune pâle				
0,53		gris- jaune foncé	gris- vert	jaune- brun			brun- rouge	brun violacé
0,48								
0,35								
0,33								
0,30		gris bleu	gris- vert					
0,26					jaune			
0,20							pourpre puis orangé	
0,15					foncé			
0,12					jaunâtre			

Un étalon de chlorhydrate de choline donne avec le réactif de DRAGENDORFF un spot brun violacé de Rf : 0,33.

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

Electrolyte carbonate d'ammonium à 6 p. 1000 (pH = 9).

papier Whatman 4
d. d. p. 25 v/cm
intensité 0,7 mA/cm
durée 1 h 15
température 21°

dépôt d'un produit enrichi par évaporation,
après avoir laissé la bande s'imbiber pendant
deux heures.

Distance parcou- rue vers l'anode mm	Jour	UV + NH ₃	UV	KOH	Tsches- che	Cl ₃ Sb + 80°
0		gris-brun				
3		traînée				
8		violacée				
15	beige	verdâtre	jaune			
20	jaune	gris-bleu	bleu-vert	jaune	brun	brun rosé
		violet	violet		jaune	jaune
		foncé				
25		bleu	bleu brillant			

Distance parcou- rue vers la cathode mm	Jour	UV	UV + NH ₃	KOH	Tsches- che	Cl ₃ Sb + 80°
4		bleu- violet	violacé		pourpre	gris

CONVALLARIA MAIALIS L.

Muguet

Liliacées

Partie employée.

Plante entière, fraîche, fleurie

Préparation.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

essence

saponoside

Convallarine

hétérosides cardiotoniques :

Convallamarine, amorphe

Convallatoxine, cristallisée (= rhamnose + convallatoxigénine)

acides chélidonique, citrique, etc...

CARACTÉRISATION

Couleur	verdâtre
Couleur sous UV	pourpre, anneau crème
ClH	coloration vert clair
NO ₃ H	coloration vert clair
NaOH	coloration jaune
Cl ₃ Fe	coloration vert-jaune
DRAGENDORFF	louche faible
TSCHESCHE	coloration brun-pourpre

1 ml de teinture-mère additionné de 1 ml de solution de potasse à 25 % et de 3 ml d'alcool à 45° donne une opalescence bleu-violet (acide chélidonique).

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD, les analyses capillaires présentent une partie supérieure peu colorée et une partie inférieure bleue.

Sous l'action des vapeurs ammoniacales, la partie inférieure devient bleue et la partie supérieure verte.

Les bandes sont roses (chlorophylle).

Le chlorure d'aluminium fait apparaître des zones jaunes.

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).

ancienneté 3 jours
 papier Arches 304
 développement 7 h — 172 mm
 température 19°

Rf	Jour	UV	UV	KOH	KOH NH ₃ +UV	Cl ₃ Sb +80°	Dragen- dorff
0,98 0,83	vert	orangé gris- violet	orangé gris				
0,62 0,53		bleu	bleu		bleu		
0,47		bleu	jaune- vert fl.	jaune		pourpre	
0,40							
0,37 0,33	jaune	kaki	kaki		jaune		
							brun violacé
0,26 0,23		gris- vert	jaune- vert			pourpre	

Un étalon de chlorhydrate de choline du commerce donne une tache brun violacé avec le réactif de DRAGENDORFF de Rf : 0,33.

Un échantillon de Convallamarine MERCK chromatographié dans les mêmes conditions donne avec le réactif de TSCHESCHE un spot rose de Rf = 0,80.

Une teinture-mère concentrée au 1/5 fait apparaître une coloration rose au même point.

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

Electrolyte carbonate d'ammonium à 6 p. 1000 (pH = 9).

papier Whatman 4
d. d. p. 22 v/cm
intensité 0,7 mA/cm
durée 1 h 20
température 20°

dépôt d'un produit enrichi par évaporation,
après avoir laissé la bande s'imbiber pendant
deux heures.

Distance par- courue vers l'anode mm	Jour	UV	UV + NH ₃	Cl ₃ Sb + 80°
0	jaunâtre	rosé		
7	jaunâtre	brun violacé		jaunâtre
9			violacé	
11		gris-mauve	mauveté	
15				jaune
19		gris-jaune		
25	beige		bleu	jaune
32		bleuté	vert	
39		traînée bleue	traînée bleu-vert	
46		gris-jaune	gris-jaune	

Distance par- courue vers la cathode mm	Tschesche	UV	UV + NH ₃	Cl ₃ Sb + 80°
2		rosé	rosé	
9		bleuté	bleuté	
11	pourpre			gris-vert

Un échantillon de Convallamarine, dans les mêmes condi-
tions migre à 11 mm vers la cathode.

DIGITALIS PURPUREA L.

Digitale pourpre
Scrophulariacées

Partie employée.

Plante fraîche, fleurie, sans racines.

Préparation.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

acides organiques :

acide digitalique (= acide succinique)

acide antirrhinique (= acide formique + acide acétique
+ acide propionique + acide butyrique + acide
isovalérianique)

acide caféique

acide férulique

tanins

sels minéraux (sels de potassium)

ferments :

hydrolases, digipurpidases, oxydases

Saponosides :

digitonine, gitonine, tigonoside

Hétérosides cardiotoniques :

Digitoxoside (3 digitoxose + digitoxigénine)

gitoxine (3 digitoxose + gitoxigénine)

gitaline (2 digitoxose + gitaligénine)

dans la plante fraîche :

purpurea glucoside A (glucose + digitoxoside)

purpurea glucoside B (glucose + gitoxoside)

digicorine (digicorigénine + acide digicuronique)

dans les graines :

digitaline amorphe (digitalose + digitaligénine)

hétéroside non cardiotonique :

diginine

flavonoïdes :

digitoflavone (= 5 — 7 — 3' — 4' tétraoxyflavone)

tapsine

CARACTÉRISATION

Couleur	brun orangé
Couleur sous UV	brune, anneau jaune
No_3H	coloration jaune
NaOH	coloration beige
Cl_3Fe	coloration vert bouteille
TSCHESCHE	coloration brun-pourpre

Réaction de VAN ITALLIE : 10 ml de teinture sont additionnés d'un même volume d'eau et évaporés au demi au bain-marie ; on ajoute de l'acétate de plomb, on filtre et le filtrat est agité avec du chloroforme, l'extrait chloroformique est évaporé, le résidu est additionné de SO^4H^2 concentré et d'un peu d'eau de brome : on obtient une coloration violette.

5 à 10 ml de teinture-mère sont additionnés de la même quantité d'eau et d'acétate de plomb ; on filtre et le précipité est agité avec de l'éther, on évapore l'extrait chloroformique et le résidu est dissous dans 3 ml d'acide acétique contenant des traces de Cl_3Fe , il est versé sur de l'acide sulfurique, il se forme à la limite de séparation un anneau vert brun sale puis la couche supérieure de SO^4H^2 devient brun-rouge et l'anneau bleu-vert vire au bleu indigo.

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD, les sous-franges sont gris bleuté ; elles verdissent sous l'action des vapeurs ammoniacales et jaunissent après vaporisation de solution alcoolique de chlorure d'aluminium.

Les bandes sont brunes et jaunissent sous l'action du chlorure d'aluminium.

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).

ancienneté 2 jours
 papier Arches 304
 développement 7 h 30 — 182 mm
 température 22°

Rf	UV	UV +NH ₃	KOH	KOH +UV	Tsche- sche	Cl ₃ Sb +80°	Dragen- dorff
0,98	brun orangé	verdâtre bleuté jaune- vert	jaune	kaki	pourpre fugace	pourpre	jaune
0,85	foncé						
0,67				bleuté			
0,50				jaune- vert			
0,46	gris- bleu						
0,33							brun violacé
0,31	verdâtre	kaki	jaune	kaki			
0,25	vert- jaune						
0,23		jaune		jaune		jaune	
0,13	gris- violet						

Un étalon de Digitaline cristallisée du commerce donne un spot de 0,98 avec les réactifs de TSCHESCHE et de CARR et PRICE.

Un témoin de chlorhydrate de choline donne une tache brun violacé avec le réactif de DRAGENDORFF de Rf : 0,33.

ANALYSE ELECTROPHORÉTIQUE

Electrolyte carbonate d'ammonium à 6 p. 1000 (pH = 9).

papier Whatman 4
d. d. p. 22 v/cm
intensité 0,7 mA/cm
durée 1 h 20
température 20°

dépôt de la T.M., après avoir laissé la bande
s'imbiber pendant deux heures.

Distance par- courue vers l'anode mm	Jour	UV	UV + NH ₃	KOH	Cl ₃ Sb + 80°
0	kaki	brun-kaki	kaki	jaune	jaune
3			bleuté		
5			kaki		
6			gris-vert		
9	beige	verdâtre ocre brunâtre	jaune	jaune	jaune
13			gris-bleu		
20			jaune		
23			jaune		

Distance par- courue vers la cathode mm	Jour	UV	UV + NH ₃	KOH	Cl ₃ Sb + 80°
2		violet	vert		gris
7		gris-bleu	violacé		

Résultats négatifs avec le réactif de TSCHESCHE.

HELLEBORUS NIGER L.

Hellebore noir
Rose de Noël
Renonculacées

Partie employée.

Racine.

Préparation.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

Glucoside cardio-actif :

Hellebroside (voisin du Scillaroside A)

matières grasses

acide aconitique

CARACTÉRISATION

Couleur	brun-jaune
Couleur sous UV	gris-jaune, anneau jaune fluorescent
Cl ₃ Fe	coloration jaune
TSCHESCHE	coloration brun-pourpre

5 ml de teinture-mère sont additionnés de 10 ml d'eau et 5 ml de ClH dilué et portés à l'ébullition dix minutes. On filtre et on imbibe le filtre de NO₃H qui prend une coloration violette devenant jaune après action de l'ammoniaque et redevenant violette si on rajoute de l'acide nitrique.

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD, les sous-franges sont bleutées, peu colorées et deviennent bleu-vert sous l'action des vapeurs ammoniacales.

Les bandes ne sont pratiquement pas visibles.

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).

ancienneté 1 jour
 papier Arches 304
 développement 7 h — 175 mm
 température 19°

Rf	UV	UV + NH ₃	KOH + UV	Cl ₃ Sb + 80°	Tsches- che	Dragen- dorff
0,98	beige			gris pourpre		
0,93		bleu	bleu			
0,78		gris-bleu				
0,58	violacé	bleu	bleu	jaune	pourpre puis orangé	
0,50	bleuté	bleu-vert	bleu-vert			
0,43				pourpre		
0,33						brun
0,29				jaune	pourpre puis orangé	violacé
0,20	gris violacé	bleu-vert	bleu-vert			

Un témoin de chlorhydrate de choline donne une tache brun violacé avec le réactif de DRAGENDORFF de Rf : 0,33.

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

Electrolyte carbonate d'ammonium à 6 p. 1000 (pH = 9).

papier Whatman 4
d.d.p. 25 v/cm
intensité 0,7 mA/cm
durée 1 h 15
température 21°

dépôt de la T. M., après avoir laissé la bande
s'imbiber pendant deux heures.

Distance parcourue vers l'anode mm	UV	UV + NH ₃	KOH
0	gris-bleu	mauveté	jaune
10	bleuté	bleu	
14	gris-jaune	gris-or	
19	gris-bleu	bleuté	
27		vert-bleu	
35	traînée ocre-beige	traînée ocre	

Distance parcourue vers la cathode mm	UV	Tschesche	KOH
3	bleuté	pourpre	

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Toutes les teintures analysées donnent une coloration rose au réactif de TSCHESCHE, caractéristique des glucosides cardiotoniques. (Chromatographie ou électrophorèse.)

ANALYSES CHROMATOGRAPHIQUES

<i>Adonis vernalis</i> :	Adonidine à 0,80.
<i>Apocynum cannabinum</i> :	Glucoside à 0,93.
<i>Convallaria maialis</i> :	Convallamarine à 0,80.
<i>Digitalis purpurea</i> :	Digitaline à 0,98.
<i>Helleborus niger</i> :	Glucosides à 0,58 et 0,29.

ANALYSES ÉLECTROPHORÉTIQUES

<i>Adonis vernalis</i> :	Adonidine migre de 5 mm vers la cathode.
<i>Apocynum cannabinum</i> :	Glucoside migre de 4 mm. vers la cathode.
<i>Convallaria maialis</i> :	Convallamarine migre de 11 mm vers la cathode.
<i>Digitalis purpurea</i> :	Digitaline non apparue.
<i>Helleborus niger</i> :	Glucoside migre de 3 mm vers la cathode.

Chaque teinture est suffisamment caractérisée par les nombreux spots révélés au cours des différents examens.

La choline a été repérée pour *Apocynum cannabinum*, *Convallaria maialis*, *Digitalis purpurea* et *Helleborus niger*.

CHAPITRE V

TEINTURES-MÈRES A GLUCOSIDES ANTHRAQUINONIQUES

ALOE SOCCOTRINA, Lamk.

Aloe Perryi, Baker

Aloès

Liliacées

Partie employée.

Suc de l'aloès.

Préparation.

Simple dissolution dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

essence

aloésol

huile essentielle

gomme

Résine (composition mal définie) : mélange d'esters cinnamiques et paracoumariques d'aloé-résinotannols

dérivés anthracéniques (= anthracénosides) :

Aloe-Emodine libre (traces)

Aloïne (ou barbaloinne)

et substances voisines (isobarbaloinne, barbaloinne)

dérivés amorphes

CARACTÉRISATION

Couleur	brun foncé
Couleur sous UV	brun-rouge, anneau brun-rouge
NaOH	coloration brun rougeâtre
Cl ₃ Fe	coloration marron-vert

Réactions générales des aloès :

On dilue la teinture et filtre sur talc. On obtient un filtrat qui donne les réactions suivantes :

— coloration rouge-cerise avec le bioxyde de sodium à 80° (libération d'émolol) ;

— *réaction de HIRCHSOHN* : coloration rouge si on ajoute une goutte de solution saturée de SO⁴Cu et d'eau oxygénée ; à l'ébullition il se forme un précipité ;

— *réaction de BORNTAEGER* : la solution agitée avec le double de son volume d'éther ou de benzène communique à ce solvant une coloration jaune verdâtre. La solution benzénique étant additionnée de quelques gouttes d'ammoniaque, la solution alcaline, après agitation, prend une coloration rouge violacé (oxyméthyl-anthraquinones libres) ;

— *réaction de SCHOUTETEN* : une solution concentrée de borax produit au bout de vingt minutes une fluorescence verte disparaissant lentement (aloé-émoldine, anthranol libre).

ANALYSE CAPILLAIRE

Ces analyses capillaires obtenues avec une teinture ayant un titre alcoolique élevé sont d'une faible hauteur ; elles sont fortement chargées en une couleur brune.

En lumière de WOOD, les sous-franges sont jaune-ocre et les bandes brun-foncé.

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).

ancienneté 1 jour
 papier Arches 304
 développement 8 h 15 — 195 mm
 température 19°

Rf	UV	UV + NH ₃	KOH	KOH + UV	UV après 5 minutes à 105°	SO ₄ H ₂ + NO ₃ H
0,97	clair	jaune de Naples	rouge	bleu	clair	bleu
0,87	brun- orange	gris-kaki				
0,71	brun violacé	kaki				
0,57	gris-jaune	jaune- clair brillant	bleu brillant	bleu brillant	bleu- violet	bleu brillant
0,43	brillant orangé	brun-vert gris-brun orangé brun- rouge violacé		jaunâtre	foncé gris-vert jaune-or	
0,33	foncé					
0,26	brun					
0,23						
0,21	brun					
0,12	gris-brun					

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

Electrolyte carbonate d'ammonium à 6 p. 1000 (pH = 9).

papier Schleicher et Schüll 2043

d. d. p. 22 v/cm

intensité 0,6 mA/cm

durée 1 h 10

température ... 20°

dépôt de la T.M., après avoir laissé la bande s'imbiber pendant deux heures.

Distance parcourue vers l'anode mm	UV	UV + NH ₃	KOH	KOH + UV	NO ₃ H au 1/3	NO ₃ H + UV au 1/3
0						
6	brun-	brun-	pourpre	gris-	jaune	
8	rouge	pourpre		rouge		
12	kaki	kaki		violacé		
18	violacé	bleu-vert		bleu-vert		bleuté
25	jaune	jaune de		mauveté	rose	rose
30	orangé	Naples				
	jaune-or	jaune	jaune	jaune		rouge
		gris-vert		verdâtre		

Distance parcourue vers la cathode mm	UV	UV + NH ₃	KOH	KOH+UV	NO ₃ H + UV au 1/3
2					
5	rouge	orangé	jaune	jaune	rose
6	violet	violet		orangé	

CONCLUSION

L'analyse chromatographique permet de retrouver dans cette teinture de l'aloïne (spot de $R_f = 0,71$), de la résine (spot de $R_f = 0,87$). L'examen électrophorétique donne de nombreux spots dont l'un d'eux à 6 mm vers l'anode correspond à un glucoside anthraquinonique.

RHAMNUS CATHARTICA L.

Nerprun

Rhamnacées

Partie employée.

Baies mûres.

Préparation.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

hetérosides à dérivés anthraquinoniques :

Gestérine, Emodine, Rhamnocathartine.

flavonoïdes :

Kaempferol

Rhamnocitrine

Rhamnétine (7 méthyl éther de quercétine)

CARACTÉRISATION

Couleur	brun foncé
Couleur sous UV	gris violacé, anneau jaune
1 ml T.M. + 1 ml H ₂ O .	trouble léger
NaOH	coloration brune
Cl ₃ Fe	coloration brun verdâtre

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD, les sous-franges sont gris-bleu, verdissant sous l'action des vapeurs ammoniacales, les bandes sont jaune foncé.

Le traitement des bandes fait apparaître dans la sous-frange une succession de teintes gris-bleu et rosées ; les bandes sont alors jaunes et brun-rose.

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).

ancienneté 1 jour
 papier Arches 304
 développement 8 h — 204 mm
 température 20°

Rf	Jour	UV	UV NH ₃	Cl ₃ Al + UV	KOH	KOH + UV
0,98	jaune	or	orangé	jaune- vert fl.	pourpre	jaune
0,90		jaune	jaune			
0,75		gris-jaune	jaune			
0,60		gris-bleu	bleu-vert fl.			
0,55						
0,48		mauve				
0,40		verdâtre	jaune			
0,38						
0,30		rose		rose		
0,27		orangé				
0,22	rose					
0,21	jaunâtre					
						gris- violet
						rose

Un étalon d'acide chlorhydrique donne un spot de Rf : 0,60.

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

Electrolyte carbonate d'ammonium à 6 p. 1000 (pH = 9).

papier Schleicher et Schüll 2043
 d. d. p. 22 v/cm
 intensité 0,6 mA/cm
 durée 1 h 15
 température ... 20°
 dépôt de la T. M., après avoir laissé la bande
 s'imbiber pendant deux heures.

Distance parcourue vers l'anode mm	UV	UV + NH ₃	Cl ₃ Al	Cl ₃ Al + UV	KOH	KOH + UV
0				jaune		
4	rose		jaune	rose	pourpre	
8		vert				vert
12	violet pâle	violet				
16				jaune-or		jaune
24		bleu				bleu
30	gris-rose			rose		
33		violet				

Distance parcourue vers la cathode mm	UV	UV + NH ₃	Cl ₃ Al + UV	KOH + UV
0				
4	violet	violet	jaune mauve	violet

RHAMNUS FRANGULA L.

Bourdainé

Rhamnacées

Partie employée.

Jeunes rameaux et écorces frais.

Préparation.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

tanin

mucilage

dérivés anthracéniques (anthracénosides)

Glucofranguline = glucose + franguloside

franguloside = rhamnose + émodol

Frangularoside = rhamnose + frangularol (anthranol)

anthrones de l'émodol (sous forme hétérosidique du
chrysophanol)

hétéroside du rhéine-anthranol

flavonoïdes

CARACTÉRISATION

Couleur brun foncé

Couleur sous UV gris violacé, anneau jaune

1 ml T. M. + 1 ml H₂O . léger trouble

NaOH coloration brun rougeâtre

Cl₃Fe coloration brune

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD, les sous-franges apparaissent saumon ; elles deviennent grises et jaunes sous l'action des vapeurs ammoniacales.

Les bandes sont brunes et jaunes.

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).

ancienneté 1 jour
 papier Arches 304
 développement 8 h — 208 mm
 température 20°

Rf	Jour	UV	UV +NH ₃	Cl ₃ Al	Cl ₃ Al +UV	KOH	KOH +UV
0,98	jaune-or	jaune-or	jaune-or				
0,93	jaune	orangé	orange		jaune	pourpre	brun- pourpre
0,82		jaune- kaki				rose de Parme	violacé
0,70	pourpre	pourpre					
0,60		gris- violet	bleu- brill.				jaune- vert
0,52	jaune	brun- rouge	brun- pourpre	jaune	rouge orangé	pourpre	violacé
0,48		verdâtre	vert brillant				
0,45		rose	jaune		jaune		jaune
0,42		brun- violet	brun				
0,40		rosé	ocre		jaune pâle		
0,35		brun- violet	brun- violet			jaune	
0,30		ocre- violet	ocre				
0,23		gris foncé	violacé				

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

Electrolyte carbonate d'ammonium à 6 p. 1000 (pH = 9).

papier Schleicher et Schüll 2043

d.d.p. 22 v/cm

intensité 0,6 mA/cm

durée 1 h 15

température ... 20°

dépôt de la T. M., après avoir laissé la bande
s'imbiber pendant deux heures.

Distance parcourue vers l'anode mm	Jour	UV	UV +NH ₃	Cl ₃ Al	Cl ₃ Al +UV	KOH	KOH +UV
4	beige	ocre		jaune		pourpre	violacé
11		orangé	rose				
22		rose	gris-bleu				
26					jaune		
35			rose				jaune
42			trainée grise				

Distance par- courue vers la cathode mm	UV	UV + NH ₃	Cl ₃ Al	KOH + UV
4	rosé	rosé		
7	rosé		jaune	jaune de cadmium
9	violet	rose		

CONCLUSION

Les teintures-mères de *Rhamnus frangula* et *Rhamnus cathartica* se différencient nettement par un examen chromatographique.

On retrouve dans ces deux teintures de l'acide chlorogénique et des dérivés anthraquinoniques (spots de $R_f = 0,98$ pour le nerprun, $0,98 - 0,93 - 0,53$ pour la bourdaine).

L'analyse électrophorétique montre que les dérivés anthraquinoniques de ces deux teintures migrent à 4 mm vers l'anode.

CHAPITRE VI

TEINTURES-MÈRES A FLAVONOIDES

ÆSCULUS HIPPOCASTANUM L.

Marronnier d'Inde
Sapindacées

Partie employée.

Jeunes rameaux en fleurs récoltés en avril-mai.

Préparation.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

amidon

huile

Quercitroside (flavonoside du quercétol)—*Rutoside* (= Rutine)

principes amers (saponines triterpéniques — *Argyrescine*)

phytostérine

catéchine

composés coumariniques = *Esculoside* (= Esculine), *Fraxin-
noside*.

CARACTÉRISATION

Couleur	brun-vert
Couleur sous UV	bleu-vert clair, anneau bleuté
1 ml T.M. + 1 ml H ₂ O .	pas de précipité, mousse abondante
SO ₄ H ₂	vert clair
NO ₃ H	coloration jaune
NH ₄ OH	coloration jaune
Cl ₃ Fe	coloration verdâtre

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD, les sous-franges présentent une zone bleu fluorescent verdissant sous l'action des vapeurs ammoniacales et jaunissant après vaporisation de chlorure d'aluminium. Les bandes sont roses (chlorophylle).

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

1° Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).

ancienneté 1 jour
papier Arches 304
développement 7 h 50 — 191 mm
température 21° ± 1°

Rf	UV	UV + NH ₃	Cl ₃ Al + UV	Dragendorff
0,98	rose	ocre		
0,91		gris-violet	gris-jaune	
0,83	violet	bleu	violet	
0,73	brun-vert	kaki	jaune-vert fl.	
0,65		bleu-vert	gris-jaune	
0,60		kaki	gris-jaune	
0,51	bleu fl.	bleu brillant	bleu	
0,42	gris-vert	vert		
0,41		bleu-vert		
0,35	verdâtre	kaki		
0,33				brun violacé
0,30	bleuté	gris-bleu		
0,27	gris-vert	brun		
0,24	verdâtre	kaki		

Un étalon de quercétine donne un spot de Rf = 0,73.

Un étalon d'esculine donne un spot bleu brillant sous UV de Rf : 0,51.

Un témoin de chlorhydrate de choline donne une tache brun violacé avec le réactif de DRAGENDORFF de Rf : 0,33.

2° Solvant éther de pétrole — alcool isoamylique — acide acétique — eau (3-1-3-3).

ancienneté 1 heure
 papier Arches 304
 développement 9 h — 172 mm
 température 22°

Rf	Jour	UV	UV + NH ₃	Cl ₃ Al	Cl ₃ Al + UV	Cl ₃ Sb + 80°
0,88	jaune	kaki	jaune bleuté			jaune gris
0,85						
0,82						
0,67	jaune pâle	jaune	jaune	jaune citron	jaune-or jaune- vert fl. jaune	jaune
0,43						

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

1° *Electrolyte carbonate d'ammonium à 6 p. 1000 (pH = 9).*

papier Whatman 4
d. d. p. 25 v/cm
intensité 0,6 mA/cm
durée 1 h 15
température 20°

dépôt de la T. M. après avoir laissé la bande
s'imbiber pendant deux heures.

Distance par- courue vers l'anode mm	UV	UV + NH ₃	Cl ₃ Al	Cl ₃ Al + UV
0	brun			
3	jaune		jaune citron	jaune-vert fl.
7		bleu		
21	brun foncé	jaune	jaune	ocre-jaune
26	bleu	bleu brillant		
36	violet	bleu-violet		
45	gris-violet	gris-bleu		

Des témoins de quercétine, rutine, esculine se déplacent
respectivement de 3, 21 et 16 mm vers l'anode.

2° Electrophorèse sur gélose.

d. d. p.	10 v/cm
intensité	1,5 mA/cm
durée	2 h
température	20°

Distance parcourue vers l'anode mm	UV
22	<i>bleu brillant</i>
56	<i>foncée, devenant jaune + NH₃</i>
68	<i>jaune</i>

Des témoins d'esculine, rutine et quercétine se déplacent sur la même plaque respectivement à 22, 56 et 68 mm vers l'anode.

CONCLUSION

Teinture assez facile à caractériser par analyse capillaire, chromatographie et électrophorèse, grâce à de belles taches bleu fluorescent dues à l'esculine.

L'analyse chromatographique révèle la présence de : choline (spot $R_f = 0,33$), quercétine (spot de $R_f = 0,73$), et d'esculine (spot de $R_f = 0,51$), la rutine n'est pas décelable.

L'analyse électrophorétique permet de retrouver : la quercétine, la rutine et l'esculine respectivement à 3, 21, 26 mm vers l'anode (électrolyte : carbonate d'ammonium à 6 ‰) et à 68, 56 et 22 mm vers l'anode (électrophorèse sur gélose).

CARDUUS MARIANUS L.

Silybum marianum, Gærtn.

Chardon Marie

Composées

Partie employée.

Plante entière, fraîche, fleurie avec les racines.

Préparation.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

résine

catéchine

essence

Tyramine

histamine

Flavonoïdes

acides organiques.

CARACTÉRISATION

Couleur	jaune clair
Couleur sous UV	verte, anneau vert clair
1 ml T. M. + 1 ml H ₂ O	trouble net
SO ₄ H ₂	coloration vert pâle
NaOH	coloration jaune
Cl ₃ Fe	coloration verdâtre

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD, les sous-franges sont bleutées.

Les bandes sont brun violacé et bleues, jaunissant sous l'action des vapeurs ammoniacales ou du chlorure d'aluminium, et roses (chlorophylle).

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

1° *Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).*

ancienneté 1 jour
 papier Arches 304
 développement 8 h — 201 mm
 température 21° ± 1°

Rf	UV	UV + NH ₃	Cl ₃ Al + UV	Dragendorff
0,98	rosé			
0,87	brun foncé	jaune	jaune-vert	
0,80	gris-bleu	gris-vert		
0,60	gris-bleu	gris-jaune	jaune	
0,52		jaune	jaune	
0,43	violacé	violet		
0,33				brun violacé
0,22	gris-jaune			

Des témoins d'acide caféique, d'acide chlorogénique et de chlorhydrate de choline donnent, respectivement, des spots de Rf : 0,80 — 0,60 — 0,33.

2° *Solvant éther de pétrole — alcool isoamylique — acide acétique — eau (3-1-3-3).*

ancienneté 1 h
 papier Arches 304
 développement 9 h — 172 mm
 température 22°

Rf	UV	UV + NH ₃	Cl ₃ Al + UV	Cl ₃ Sb + 80°
0,88	gris	beige		
0,86				gris-jaune
0,81	jaune	jaune fl.	jaune fl.	jaune
0,61		gris-jaune		

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

Electrolyte carbonate d'ammonium à 6 p. 1000 (pH = 9).

papier Whatman 4
d. d. p. 25 v/cm
intensité 0,6 mA/cm
durée 1 h 15

dépôt de la T. M., après avoir laissé la bande
s'imbiber pendant deux heures.

Distance par- courue vers l'anode mm	UV	UV + NH ₃	Cl ₃ Al	Cl ₃ Al + UV
0	rosé			
12	gris-bleu			
16	foncé	kaki	jaune	jaune
20	gris-bleu			
26	brun foncé	kaki	jaune	jaune
31	gris-bleu	gris-violet		
33		gris-jaune bleuté		

CONCLUSION

Dans cette teinture il nous a été possible de caractériser la choline, l'acide caféique, l'acide chlorogénique et des dérivés flavoniques qui migrent à 16 et 26 mm vers l'anode en électrophorèse et donnent des spots de $R_f = 0,87$ et $0,52$ en chromatographie.

CRATÆGUS OXYACANTHA L.

Aubépine

Rosacées

Partie employée.

Drupes mûres.

Préparation.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

dérivés aminés divers : isoamylamine, isobutylamine, éthylamine, triméthylamine, diméthylamine, éthanolamine, choline, acétylcholine

flavonoïdes : hypéroside, quercétine

sapogénines triterpéniques : acide ursolique, acide cratægolique, acide déanolique

acide caféique

acide chlorogénique

anthocyanosides

adénosine, adénine, guanine, acide urique

glucoside heptahydroxyflavane

CARACTÉRISATION

couleur	brun orangé
couleur sous UV	brun violacé, anneau rosé
SO ₄ H ₂	coloration rose
Na ₃ H	coloration rose terne
Cl ₃ Fe	coloration vert bouteille
NaOH	coloration beige verdâtre

X gouttes de teinture-mère avec V gouttes d'acétate de plomb donnent un précipité brun-jaune, le liquide surnageant étant jaune.

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD, les sous-franges présentent une zone bleu très pâle, devenant fluorescente sous l'action des vapeurs ammoniacales et une zone bleu fluorescent verdissant sous

l'action des vapeurs ammoniacales et jaunissant après vaporisation de chlorure d'aluminium.

Les bandes sont ocrés, devenant jaunes sous l'action de l'ammoniac, et roses (chlorophylle).

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).

ancienneté 2 jours
papier Arches 304
développement 8 h 15 — 185 mm.
température 21°

Rf	Jour	UV	UV +NH ₃	Cl ₃ Al	Cl ₃ Al +UV	Borate	Hydro- borure de K + vap ClH +UV	Dra- gen- dorff
0,99 0,90		rouge	rosé					
0,80		bleu	bleu- vert			gris- bleu	violacé	
0,73		jaune	jaune		vert	gris- bleu	violet	
0,60		gris bleuté	vert- jaune	jaune	jaune	vert- jaune bleu- vert brillant	violet	
0,53		bleu	vert fl.		gris- bleu			
0,35 0,33	violet	violet	brun					
0,27	orangé	brun	brun- rouge					brun violacé
0,21		violet pâle	gris- bleu					

Des témoins d'acide caféique, d'acide chlorogénique et de chlorhydrate de choline donnent respectivement des spots de Rf : 0,80 — 0,60 — et 0,33.

Un témoin de quercétine donne un spot de Rf = 0,73.

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

Electrolyte carbonate d'ammonium à 6 p. 1000 (pH = 9).

papier Whatman 4
d. d. p. 25 v/cm
intensité 0,6 mA/cm
durée 1 h 15
température 21°

dépôt d'un produit enrichi par évaporation
après avoir laissé la bande s'imbiber pendant
deux heures.

Distance par- courue vers l'anode mm	Jour	UV	UV + NH ₃	Cl ₃ Sb + 80°
0	beige	brun	mauveté	jaunâtre
4		bleu-violet		
7		gris violacé		
11	orangé	jaune-or	jaune orangé	
15		jaune-vert	jaune-vert	
17			gris violacé	
20	orangé	brun	kaki	jaune
23	beige	violacé	bleu	
26		gris-jaune	jaune-vert	

CONCLUSION

Dans cette teinture, il nous a été possible de caractériser la choline, l'acide chlorogénique, l'acide caféique, la quercétine (spot de Rf = 0,73) et un dérivé flavonique qui migre à 20 mm vers l'anode en électrophorèse et donne un spot de Rf = 0,90 en chromatographie.

CYNARA SCOLYMUS L.

Artichaut
Composées

Partie employée.

Plante entière, fraîche, avec les racines, les feuilles et les bractées.

Préparation de la teinture.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

acides organiques (acide glycolique, malique, glycérique, lactique)

acide caféique, acide chlorogénique

inuline

principe amer (*Cynarénine* = ester dicaféique de l'acide quinique)

deux dérivés flavoniques :

Cynaroside (5 — 7 — 3' — 4' tétrahydroxyflavone)

Scolymoside

mucilage, pectines, tannins, sucres

deux composants inconnus donnant avec le perchlorure de fer une coloration verte.

CARACTÉRISATION

Couleur	brun verdâtre
Couleur sous UV	crème rosé, anneau rose
SO ₄ H ₂	coloration légèrement verdâtre
Cl ₃ Fe	coloration verte (<i>cynarénine</i>)

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD, les sous-franges sont bleutées, verdissant sous l'action des vapeurs ammoniacales et devenant jaunes après vaporisation de chlorure d'aluminium.

Les bandes sont ocre, jaunissant aux vapeurs ammoniacales et roses (chlorophylle).

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

1° *Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).*

ancienneté 3 jours
 papier Arches 304
 développement 7 h 30 — 190 mm
 température 20° ± 1°

Rf	Jour	UV	UV +NH ₃	Cl ₃ Al +UV	Hydro- borure de K + UV	Hydro- borure de K + vap HCl + UV	Dragen- dorff
0,98 0,93 0,80 0,60	verdâtre	rose gris-bleu bleu	rose vert fl. vert fl.	rose gris-vert bleu-vert brillant	rose bleu gris-vert bleu-vert brillant	violet violacé bleu-vert brillant	
0,35 0,33 0,23 0,20 0,18	jaune	brun- kaki bleu gris- vert gris- jaune	jaune	jaune			brun violacé

Le spot de Rf : 0,33 correspond à celui que donne la choline.

Le spot de Rf : 0,80 correspond à celui que donne l'acide caféique.

Le spot de Rf : 0,60 correspond à celui que donne l'acide chlorogénique.

2° Solvant éther de pétrole — alcool isoamylique — acide acétique — eau (3-1-3-3).

ancienneté 1 h
 papier Arches 304
 développement 9 h — 172 mm
 température 22°

Rf	Jour	UV	UV + NH ₃	Cl ₃ Al + UV	Cl ₃ Sb+80°
0,91	jaune		gris-vert		gris
0,90		verdâtre	vert fl.	gris-vert fl.	
0,87		jaune			
0,84		bleu-violet			
0,75		ocre			
0,65		gris-jaune	ocre	jaune-or jaune-or	

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

Electrolyte carbonate d'ammonium à 6 p. 1000 (pH = 9).

papier Whatman 4

d. d. p. 25 v/cm

intensité 0,6 mA/cm

durée 1 h 15

dépôt de T. M. après avoir laissé la bande
s'imbiber pendant deux heures.

Distance par- courue vers l'anode mm	UV	UV + NH ₃	Cl ₃ Al	Cl ₃ Al+UV
0	jaune-kaki		jaune	ocre-jaune
3				
21	gris-bleu	gris		vert-jaune
30	bleuté	bleu		
37	gris-bleu	vert		

CONCLUSION

Dans cette teinture, il a été possible de caractériser la choline, l'acide caféique, l'acide chlorogénique. Des dérivés flavoniques dont l'un migre à 37 mm vers l'anode en électrophorèse et qui donnent des spots de $R_f = 0,93$ et $0,35$ en chromatographie.

RHUS TOXICODENDRON L.

Sumac vénéneux

Térébenthacées

Partie employée.

Feuilles et tiges fraîches.

Préparation.

Macération dans l'alcool à 80°.

Composition chimique.

principe toxique, huileux, non volatil

Urushiol (= toxicodendrol, mélange de divers composés
phénolique, à chaînes latérales saturées ou insaturées)

tannins

sucres

flavone (*Fiséline* = 3 - 7 - 3' - 4' - tétra-oxy-flavone)

CARACTÉRISATION

Couleur	brune
Couleur sous UV	rouge orangé, anneau rouge
SO ₄ H ₂	coloration vert clair
NaOH	coloration jaune puis précipité brun (<i>fisétine</i>)
NH ₄ OH	coloration jaune virant au rose
Cl ₃ Fe	coloration vert sombre
DRAGENDORFF	précipité brun orangé

ANALYSE CAPILLAIRE

En lumière de WOOD, les sous-franges sont bleutées devenant bleu violacé fluorescent sous l'action des vapeurs ammoniacales et mauves après vaporisation de chlorure d'aluminium, et brun violacé devenant ocre aux vapeurs d'ammoniac et jaune d'or avec le chlorure d'aluminium.

Les bandes sont jaunes et roses (chlorophylle).

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

1° Solvant butanol — acide acétique — eau (4-1-5).

ancienneté 1 jour
 papier Arches 304
 développement 8 h — 200 mm
 température $21^{\circ} \pm 1^{\circ}$

Rf	UV	UV + NH ₃	Cl ₃ Al	Cl ₃ Al + UV	Dragen- dorff
0,98	brun				
0,88	brun-rouge				
0,85	jaunâtre	violet			
0,71	foncé	jaune-kaki	jaune	jaune	
0,61	kaki foncé	orangé	jaune	brun- jaunâtre	
0,45	gris-vert	violet			
0,33					brun violacé
0,28	gris				
0,22	clair	gris-bleu			

Un étalon de chlorhydrate de choline du commerce donne avec le réactif de DRAGENDORFF une tache brun violacé de Rf : 0,33.

2° Solvant éther de pétrole — alcool isoamylique — acide acétique — eau (3-1-3-3).

ancienneté 1 h
 papier Arches 304
 développement 9 h — 172 mm
 température 22°

Rf	Jour	UV	UV + NH ₃	Cl ₃ Al + UV	Cl ₃ Sb + 80°
0,97	jaune				jaune
0,90	jaune	gris-vert	verdâtre	jaune-or	jaune
0,88		jaunâtre	jaune		jaune
0,86		kaki foncé	kaki		gris-kaki
0,84		violacé	chamois		jaune
0,80		jaunâtre	ocre		
0,61		gris-jaune	orangé		
0,30		verdâtre	gris-jaune		

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

Electrolyte carbonate d'ammonium à 6 p. 1000 (pH = 9).

papier Whatman 4
d. d. p. 27 v/cm
intensité 0,6 mA/cm
durée 1 h 15

dépôt de la T. M., après avoir laissé la bande
s'imbiber pendant deux heures.

Distance par- courue vers l'anode mm	Jour	UV	UV + NH ₃	Cl ₃ Al + UV
0	jaune	brun-rouge	verdâtre	jaunâtre
10		gris-jaune		
19		bleuté		ocre-jaune
23		gris-vert		
26		kaki		
34		violacé		

CONCLUSION

Dans cette teinture, il a été possible de caractériser la choline et des dérivés flavoniques qui migrent à 10 et 26 mm vers l'anode en électrophorèse ; ils donnent des spots en chromatographie de $R_f = 0,71$ et $0,61$ (avec le mélange de PARTRIDGE), de $R_f = 0,97$ et $0,88$ (avec le solvant éther de pétrole, alcool isoamylique, acide acétique, eau).

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

La première partie de ce travail a trait à des généralités où sont exposées sommairement les trois techniques utilisées, qui sont essentiellement PHYSIQUES.

Dans la seconde partie, nous avons relaté nos propres résultats expérimentaux, détaillant 23 teintures d'emploi courant en homéopathie ou difficiles à différencier de teintures voisines.

En ce qui concerne l'ANALYSE CAPILLAIRE, nous nous sommes contentés, dans un cadre homogène, de reprendre la méthode décrite par M^{lle} Line ALLÈGRE. L'« analyse modifiée » complète l'analyse simple. Elle permet une plus grande précision dans la diagnose, par action de l'alcool à 50° et l'utilisation de réactifs révélateurs communs. La lumière de WOOD y est largement mise à contribution. La méthode est simple. Elle permet parfois une bonne caractérisation ; c'est le cas pour *Veratrum album*, *Adonis vernalis*, *Æsculus Hippocastanum*, *Cratægus oxyacantha*, *Aloe soccotrina*.

La CHROMATOGRAPHIE ASCENDANTE SUR PAPIER utilisant des solvants entraîneurs, comme le mélange de PARTRIDGE, convient parfaitement à des essais d'identification. Outre la lumière de WOOD, nous avons employé un certain nombre de révélateurs d'une spécificité déjà grande (réactifs de DRAGENDORFF, à l'IODOPLATINATE DE POTASSIUM, de TSCHESCHE, de CARR et PRICE. etc...). Nous ne pouvons nier les multiples avantages qu'offre une telle méthode. Elle n'en demeure pas moins relativement plus longue d'exécution que les deux autres. Nous avons obtenu de bons chromatogrammes avec les teintures suivantes : *Conium maculatum*, *Veratrum album*, *Adonis vernalis*, *Apocynum cannabinum*, *Convallaria*

maialis, *Digitalis purpurea*, *Helleborus niger*, *Aloe soccotrina*, *Rhamnus cathartica*, *Rhamnus frangula*, *Cratægus oxyacantha*, *Rhus Toxicodendron*, *Æsculus Hippocastanum*.

Nous avons aussi cru bon de considérer quel pourrait être l'apport de l'ÉLECTROPHORÈSE. L'appareillage mis en œuvre est simple, maniable, sûr. L'électrophorèse constitue une méthode séparative remarquable pour les substances d'une polarité déterminée. Sous les réserves d'un recours au sur-voltage et de l'emploi d'un électrolyte judicieusement choisi (la solution de CARBONATE D'AMMONIUM à 6 p. 1000 s'est avérée excellente), elle est rapide. Elle donne des résultats reproductibles à condition d'opérer toujours dans les mêmes conditions. Bénéficiant des mêmes techniques de révélation que la chromatographie, sa précision apparaît suffisante pour la diagnose des teintures-mères homéopathiques. Si elle n'est pas toujours supérieure aux techniques précédentes, elle les complète parfois utilement. Les résultats sont nets ou exploitables avec *Atropa belladonna*, *Hyoscyamus niger*, *Datura Stramonium*, *Hydrastis canadensis*, *Chelidonium majus*, *Conium maculatum*, *Veratrum album*, *Adonis vernalis*, *Apocynum cannabinum*, *Convallaria maialis*, *Digitalis purpurea*, *Helleborus niger*, *Aloe soccotrina*, *Rhamnus cathartica*, *Rhamnus frangula*, *Æsculus Hippocastanum*, *Cratægus oxyacantha*.

Nous avons essayé de différencier les teintures voisines de par leur origine botanique ou leurs caractères organoleptiques. Beaucoup mieux que l'analyse capillaire ou la chromatographie, l'électrophorèse permet de distinguer *Atropa belladonna* d'*Hyoscyamus niger* et de *Datura Stramonium*, *Hydrastis canadensis* et *Chelidonium* des *Berberis*.

Chaque fois que cela était possible, nous avons cherché à établir une correspondance entre les taches obtenues et un composant déterminé de la teinture au moyen de substances de référence. Nous avons notamment reconnu la présence de choline dans *Atropa belladonna*, *Hyoscyamus niger*, *Datura Stramonium*, *Berberis vulgaris*, *Berberis aquifolium* (plus riche que la précédente), *Chelidonium majus*, *Colchicum autumnale*, *Conium maculatum*, *Veratrum album*, *Apocynum cannabinum*, *Convallaria maialis*, *Digitalis purpurea*, *Helleborus niger*,

Æsculus Hippocastanum, Carduus marianus, Cratægus oxyacantha, Cynara Scolymus, Rhus Toxicodendron.

La lumière de WOOD décèle un grand nombre de substances auxquelles elle communique diverses teintes. Mais *l'appréciation de la couleur varie avec l'observateur*. Il faut attribuer une part de subjectivité aux résultats communiqués.

Nous pensons que l'analyse capillaire, la chromatographie sur papier et l'électrophorèse apportent suffisamment d'éléments pour envisager une bonne diagnose des teintures-mères végétales homéopathiques.

CONCLUSIONS

1^o Nous avons cherché à identifier quelques teintures-mères végétales homéopathiques en nous servant de la chromatographie sur papier et de l'électrophorèse.

2^o Les chromatographies sur papier ont été réalisées pour toutes les teintures avec le mélange de PARTRIDGE, et quelquefois avec d'autres solvants choisis en fonction de la composition chimique de la teinture.

La préparation a été examinée à la lumière de WOOD et après action de réactifs révélateurs.

Nous avons, avec des réactifs appropriés et par comparaison avec des témoins chromatographiés en même temps que les teintures, déterminé la présence de divers composés chimiques dans ces teintures.

3^o Nous avons mis au point la technique électrophorétique en vue de son application aux teintures-mères végétales homéopathiques.

L'emploi d'un survolteur s'est révélé nécessaire et permet très rapidement, en une heure trente ou deux heures, d'avoir des résultats.

Le carbonate d'ammonium s'est montré un excellent électrolyte.

4^o Nous avons présenté une analyse de 23 teintures groupées en fonction de leur constitution chimique.

Vu :

Le Doyen,
H. HERMANN.

Le Président de la Thèse,
G. NÉTIEN.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 23 mars 1959

Le Recteur, Président du Conseil de l'Université,
André ALLIX.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ALLÈGRE (M^{lle} L.). — *Contribution à l'étude de l'identification des teintures-mères végétales homéopathiques*. Thèse doctorat Univ. (Pharm.), Lyon, 1956.
- [2] BOIRON J. et CHESNARD Ch. — Actes Soc. Rhod. Homeopathie, fasc. 1, 1955.
- [3] BÜCHI J. et SALIVA M. — Utilisation de la chromatographie sur papier dans l'analyse des médicaments. *Pharm. acta Helv.*, 1955, 30 : 297-320.
- [4] BÜCHI J. et SCHUMACHER H. — Die Reinheitprüfung der Alkaloide mit Hilfe der papier chromatographie.
Pharm. Acta Helv. 1957, 32 (n° 7) : 403-409 (*Hydrastis*).
— 1957, 32 (n° 7) : 273-288 (*Opium*).
— 1957, 32 (n° 7) : 194-204 (*Coca*).
- [5] CONSDEN R., GORDON A.H. et MARTIN A.J.P. — Qualitative analyse of proteins : a partition chromatographie method using paper. *Biochem. J.*, 1944, 38 : 224.
- [6] CREMER D. et TISELIUS A. — Elektrophorese von Eiweiss in Filterpapier. *Biochim. Z.*, 1950, 320 : 273.
- [7] DURAND M. — *Contribution à l'étude des Aloès officinaux et en particulier de leur essai physicochimique*. Thèse doctorat Etat (Pharm.), Paris, 1958.
- [8] ERLRING H. et WULF W. — Kolloid. *Ztsch.*, 1952, 99 : 125.
- [9] FAUCONNET L. et KREIS K. — L'analyse des digitales par chromatographie sur papier. *Pharm. acta Helv.*, 1957, 32 : 253.
- [10] FAUGERAS G. — *Contribution à l'étude des alcaloïdes et des flavonoïdes chez quelques génistées indigènes à l'aide de l'électrophorèse*. Thèse doctorat Etat (Pharm.), Paris, 1956.

- [11] GRAF E. et LIST D.P.H. — Studien zur Papierelektrophorese. Papierelektrophoretische Gehaltsbestimmung von Morphin und Chelidonin in natürlichen Gemischen. *Arzneimittel-Forschung*, 1954, 4 : 450.
- [12] GRASSMANN W. et HANNIG K. — *Naturwiss*, 1950, 37 : 496.
- [13] HAGEDORN P. — Die papierchromatographie von Urtinkturn. *Deutsche Apotheker Zeitung*, 1952, 92 (n° 52) : 986-990.
- [14] HÖRHAMMER L. et LEUE K.W. — Die papierchromatographische Beurteilung der Tinkturen und fluidextrakte des DAB6. *Arch. des Pharmazie*, 1955 ; 268 (n° 8/9) : 377-388.
- [15] KARIYONE P., HASHIMOTO Y., MORI I. et KIMURA M. — Microchemical Studies of plant components : Paper Electromigration and Paper Chromatography of Organic Bases. *J. Pharm. Soc. Japan*, 1953, 73 : 808 et 1095.
- [16] KEDDE D.L. — *Diss. Leyden*, 1946.
- [17] KRAUS L. — L'analyse quantitative de l'Aloïne dans « *Aloe capensis* ». *Pharmazie*, 1957, 12, n° 10 : 693.
- [18] LANG W. — *Deutsche Apotheker Zeitung*, 1951, 91-125.
- [19] LEDERER M. — *Progrès récents de la chromatographie*. Hermann et C^{ie}, édit., Paris, 1949.
- [20] LEDERER M. — *An introduction to paper electrophoreses and related methods*. Elsevier Publishing Compagny, édit., Amsterdam, Houston, London, New York, 1955.
- [21] LEDERER E. et M. — *Chromatography : a review of principals and applications*. Elsevier Publishing Compagny, édit. 1955.
- [22] MIRIMANOFF A. et HAKIM A. — Chromatographie sur papier de quelques teintures d'alcaloïdes de la pharmacopée suisse. *Arch. Sc. phys. Hist. nat.* Genève, 1951, 4 : 335-337.
- [23] MOINAT P.G. et TULLER E.F. — Voltage and temperature relationships in paper electrophoreses of serum proteins. *Anal. chem. U.S.A.*, 1957, n° 29 (n° 11) : 1655.
- [24] MUNIER R. et MACHEBŒUF M. — Micrographie de partage des alcaloïdes et de diverses bases azotées biologiques. *Bull. Soc. Chim. Biol. de France*, 1952, 34 : 204.

- [25] NÉTIEN G., BOIRON J. et ALLÈGRE (M^{lle} L.). — Identification de teintures-mères homéopathiques d'origine végétale et d'espèces très voisines. Quelques procédés de caractérisation. *C.R. Soc. Pharm. de Lyon*, mars 1956.
- [26] NÉTIEN G., BOIRON J. et ALLÈGRE (M^{lle} L.). — Identification de teintures-mères homéopathiques d'origine végétale et d'espèces très voisines. Quelques procédés de caractérisation. *Bull. Soc. Pharm. de Lyon*, 1 (n° 1) : 26.
- [27] NÉTIEN G., BOIRON J. et SAINT-BLANCARD J. — Identification des teintures-mères homéopathiques d'origine végétale par électrophorèse sur papier. *Bull. Soc. Pharm. de Lyon*, novembre 1958 (sous presse).
- [28] PARIS R. — Chromatographie sur papier des quelques dérivés flavoniques. *Bull. Soc. chim. biol.*, 1952, 34 : 764.
- [29] PARIS R. et FAUGERAS G. — Application de l'électrophorèse à la séparation des alcaloïdes et des dérivés flavoniques chez quelques légumineuses. *Ann. Pharm. fr.*, 1955, 13 : 359.
- [30] PARIS R. et VIEGO J.P. — Identification des drogues simples et contrôle des médicaments végétaux par chromatographie sur papier. *Ann. Pharm. fr.*, 1955, 13 : 424.
- [31] PARIS R. — Application de la chromatographie à la caractérisation et au contrôle des médicaments d'origine végétale. *Conf. des Journées Pharmaceutiques fr.*, oct., 1955 ; *Problèmes et techniques*, 1955, n° 25 : 23.
- [32] PARIS R. et MOYSE-MIGNON (M^{me}). — Caractérisation de la choline par chromatographie sur papier chez quelques plantes médicinales. *Ann. Pharm. fr.*, 1956, 14 : 464.
- [33] PARIS R. et FAUGERAS G. — Application de l'électrophorèse à quelques cas de séparation d'alcaloïdes. *Ann. Pharm. fr.*, 1958, 16 : 305.
- [34] PARIS R., DURAND M. et BONNET J.L. — Etude de quelques champignons à l'aide de la chromatographie sur papier. *Ann. Pharm. fr.*, 1957, 15 : 677.
- [35] PARIS R. et MIGNON (M^{me} H.). — Examen en électrophorèse sur papier des alcaloïdes totaux de diverses espèces de Pervenches. *C.R. Acad. Sc.*, 1957, 245 (15) : 1265.
- [36] PARIS R. — Utilisation de la chromatographie et de l'électrophorèse pour l'étude des médicaments d'origine végétale. *Journ. Pharm. Belg.*, 1956, 38 : 9.

- [37] PARIS R. et FAUGERAS G. — Dosage des alcaloïdes des *Jusquiames*. *Ann. Pharm. Fr.*, 1956, 14 : 537.
- [38] PARIS R. — Différenciation de divers types de flavonoïdes en chromatographie sur papier. *Congrès International de Biochimie*, Vienne, 1958.
- [39] ROUX A. — Application de l'électrophorèse sur papier à l'identification et au contrôle de drogues végétales et de leurs formes pharmaceutiques. *Ann. Pharm. fr.*, 1956, 14 : 212.
- [40] ROUX A. — Application de l'électrophorèse sur papier à l'étude de l'*Hydrastis* et de ses alcaloïdes ; contrôle de pureté de l'hydrastinine. *Ann. Pharm. fr.*, 1957, 15 : 119.
- [41] RUTTER L. — *Analyst*. Lond. 1950, 75-37.
- [42] SCHMID H. et STEINEGGER E. — Zur Kenntnis der *Lobelia syphilitica*. Alkaloide. *Pharm. Acta Helv.*, 1957, 32 : 205-206.
- [43] SCHINDLER H. — *Vorschläge für das neue Deutsche Homöopathische Arzneibuch*, Tomes I, II, III, IV (de 1955 à 1958). Edit. Buchdruckeri Ungeheuer et Ulmer Ludwigsburg.
- [44] SCHOLZ (Von E.) et HAGEDORN P. — Untersuchung von Arzneimittelmischungen mittels Papierelektrophorese. *Deutsche Apoth. Zeit.*, 1953, n° 5 : 81.
- [45] SIESTO A.J. et BARTOLI A. — Separazione elettroforética sur carta di ossi metilan trachinono (O.M.A.) del rabarbaro. *Farmaco, Rd. prat. Ital.*, 1957, 12 (n° 11) : 517.
- [46] TISELIUS A. — *Trans. Faraday Soc.*, 1957, 33 : 524.
- [47] TSCHESCHE R. et SEEHOFER F. — *Chem. Ber.*, 1954, 87 : 1 108.
- [48] VIEGO J.P. — *Identification des drogues et contrôle des médicaments d'origine végétale par chromatographie sur papier*. Thèse doctorat Univ. (Pharm.), Paris, 1956.
- [49] WUNDERLY Ch. — *Electrophorèse sur papier*. Vigot Frères, éditeurs, 1956, Paris.
-

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	9
INTRODUCTION	11

PREMIÈRE PARTIE

GÉNÉRALITÉS

PLAN D'EXAMEN D'UNE TEINTURE-MÈRE.....	17
L'ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE :	
— Historique	19
— Méthode utilisée	21
L'ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE :	
— Historique	25
— Electrophorèse sur papier	26
Technique.....	26
Conduite de l'électrophorèse	27
— Electrophorèse sur gélose	33

DEUXIÈME PARTIE

ESSAIS EXPÉRIMENTAUX

TEINTURES-MÈRES ÉTUDIÉES	37
CHAPITRE PREMIER. — T. M. à alcaloïdes du type atropine :	
<i>Atropa belladonna</i>	39
<i>Hyoscyamus niger</i>	44
<i>Datura Stramonium</i>	48
Conclusion	52
CHAPITRE II. — T. M. à alcaloïdes du type Berbérine et de caractères organoleptiques voisins :	
<i>Berberis vulgaris</i>	53
<i>Berberis Aquifolium</i>	57
<i>Hydrastis canadensis</i>	61
<i>Chelidonium majus</i>	65
Conclusion	69

CHAPITRE III. — T. M. à alcaloïdes divers :

<i>Colchium autumnale</i>	71
<i>Conium maculatum</i>	74
<i>Veratrum album</i>	77

CHAPITRE IV. — T. M. à glucosides cardio-toniques :

<i>Adonis vernalis</i>	81
<i>Apocynum cannabinum</i>	85
<i>Convallaria maialis</i>	88
<i>Digitalis purpurea</i>	91
<i>Helleborus niger</i>	95
Conclusion	98

CHAPITRE V. — T. M. à glucosides anthraquinoniques :

<i>Aloe soccotrina</i>	99
<i>Rhamnus cathartica</i>	104
<i>Rhamnus frangula</i>	107

CHAPITRE VI. — T. M. à flavonoïdes :

<i>Aesculus Hippocastanum</i>	111
<i>Carduus marianus</i>	116
<i>Crataegus oxyacantha</i>	119
<i>Cynara Scolymus</i>	122
<i>Rhus Toxicodendron</i>	126

CONCLUSIONS GÉNÉRALES	131
-----------------------------	-----

CONCLUSIONS	135
-------------------	-----

BIBLIOGRAPHIE	137
---------------------	-----

Imprimerie EMMANUEL VITTE
177, Avenue Félix-Faure, LYON

— 3725 —
